A maneira inteligente de estudar Student Consult



MICROBIOLOGIA MÉDICA

MURRAY O ROSENTHAL O PFALLER

ELSEVIER



Microbiologia Médica

8ª EDIÇÃO

Patrick R. Murray, PhD

Senior Worldwide Director, Scientific Affairs BD Diagnostics Systems Sparks, Maryland; Adjunct Professor, Department of Pathology University of Maryland School of Medicine Baltimore, Maryland

Ken S. Rosenthal, PhD

Professor of Biomedical Sciences
Director of Microbiology and Immunology
Roseman University of Health Sciences College of Medicine
Las Vegas, Nevada;
Emeritus Professor
Northeastern Ohio Medical University
Rootstown, Ohio

Michael A. Pfaller, MD

Chief Medical Officer
T2 Biosystems
Lexington, Massachusetts;
Professor Emeritus
University of Iowa College of Medicine and College of Public Health
Iowa City, Iowa

ELSEVIER

Sumário

Capa
Folha de rosto
Copyright
Dedicatória
Revisão Científica e Tradução
Prefácio
Seção 1: Introdução
Capítulo 1: Introdução à Microbiologia Médica
Vírus
Bactérias

Fungos

Parasitas

Imunologia

Doença Microbiana

Microbiologia Diagnóstica

Resumo

Capítulo 2: Microbioma Humano na Saúde e na Doença

Projeto Microbioma Humano

Microbioma Central (Core)

Evolução do Microbioma e da Flora Normal

Papel do Microbioma na Doença

Diagnóstico e Terapêutica

Probióticos

Perspectiva

Capítulo 3: Esterilização, Desinfecção e Antissepsia

Esterilização

Desinfecção

Antissepsia

Mecanismos de Ação

Seção 2: Princípios Gerais do Diagnóstico Laboratorial

Capítulo 4: Microscopia e Cultivo in vitro

Microscopia

Cultura in vitro

Capítulo 5: Diagnóstico Molecular

Detecção do Material Genético Microbiano

Detecção de Proteínas

Capítulo 6: Diagnóstico Sorológico

Anticorpos

Métodos de Detecção

Imunoensaios para Antígenos Associados a Células (Imuno-histologia)

Imunoensaios para Anticorpos e Antígenos Solúveis

Sorologia

Seção 3: Conceitos Básicos da Resposta Imune

Capítulo 7: Elementos das Respostas Protetoras do Hospedeiro

Ativadores Solúveis e Estimuladores das Funções Inata e Adaptativa

Células da Resposta Imune

Capítulo 8: Resposta Imune Inata

Barreiras contra a Infecção

Componentes Solúveis da Resposta Imune Inata

Componentes Celulares da Resposta Imune Inata

Ativação das Respostas Celulares Inatas

Respostas Associadas à Flora Normal

Inflamação

Ponte para Respostas Imunes Antígeno-Específicas

Capítulo 9: Respostas Imunes Antígeno-específicas

Imunógenos, Antígenos e Epítopos

Células T

Receptores de Superfície nas Células T

Desenvolvimento de Células T

Iniciação das Respostas de Células T

Ativação das Células T CD4 e sua Resposta ao Antígeno

Células T CD8

Células NKT

Células B e Imunidade Humoral

Tipos de Imunoglobulinas e suas Estruturas

Imunogenética

Resposta de Anticorpos

Capítulo 10: Respostas Imunes aos Agentes Infecciosos

Respostas Antibacterianas

Respostas Antivirais

Respostas Imunes Específicas aos Fungos

Respostas Imunes Específicas aos Parasitas

Outras Respostas Imunes

Imunopatogênese

Respostas Autoimunes

Imunodeficiência

Capítulo 11: Vacinas Antimicrobianas

Tipos de Imunizações

Programas de Imunização

Seção 4: Bacteriologia

Capítulo 12: Classificação, Estrutura e Replicação Bacterianas

Diferenças entre Eucariotas e Procariotas

Classificação Bacteriana

Estrutura Bacteriana

Estrutura e Biossíntese dos Principais Componentes da Parede Celular Bacteriana

Divisão Celular

Esporos

Capítulo 13: Metabolismo Bacteriano e Genética

Metabolismo Bacteriano

Genes Bacterianos e Expressão Gênica

Genética Bacteriana

Capítulo 14: Mecanismos de Patogenicidade Bacteriana

Entrada no Corpo Humano

Colonização, Adesão e Invasão

Ações Patogênicas das Bactérias

Imunopatogênese

Mecanismos de Escape às Defesas do Hospedeiro

Resumo

Capítulo 15: O Papel das Bactérias nas Doenças

Capítulo 16: Diagnóstico Laboratorial das Doenças Bacterianas

Material Clínico, Transporte e Processamento

Detecção e Identificação Bacterianas

Capítulo 17: Agentes Antibacterianos

Inibição da Síntese da Parede Celular

Inibição da Síntese Proteica

Capítulo 18: Staphylococcus e Outros Cocos Gram-positivos Relacionados

Fisiologia e Estrutura

Patogênese e Imunidade

Epidemiologia

Doenças Clínicas (Quadro 18-1)

Diagnóstico Laboratorial

Tratamento, Prevenção e Controle

Capítulo 19: Streptococcus e Enterococcus

Streptococcus pyogenes

Streptococcus agalactiae

Outros estreptococos β-hemolíticos

Estreptococos viridans

Streptococcus pneumoniae

Enterococcus

Capítulo 20: Bacillus

Bacillus anthracis

Bacillus cereus

Capítulo 21: Listeria e Bactérias Gram-positivas Relacionadas

Listeria monocytogenes

Erysipelothrix rhusiopathiae

Corynebacterium diphtheriae

Capítulo 22: Mycobacterium e Bactérias Acidorresistentes Relacionadas

Fisiologia e Estrutura das Micobactérias

Mycobacterium tuberculosis

Outras Micobactérias de Crescimento Lento

Micobactérias de Crescimento Rápido

Nocardia

Outras Bactérias Fracamente Acidorresistentes

Capítulo 23: Neisseria e Gêneros Relacionados

Neisseria gonorrhoeae e Neisseria meningitidis

Outras espécies de Neisseria

Capítulo 24: Haemophilus e Bactérias Relacionadas

Haemophilus

Capítulo 25: Enterobacteriaceae

Propriedades Gerais

Escherichia coli

Salmonella
Shigella
Yersinia
Outras Enterobacteriaceae
Outras Propriedades Gerais
Capítulo 26: Vibrio e Aeromonas
Vibrio
Aeromonas
Capítulo 27: Pseudomonas e Bactérias Relacionadas
Pseudomonas
Burkholderia
Stenotrophomonas maltophilia
Acinetobacter
Moraxella
Capítulo 28: Campylobacter e Helicobacter
Campylobacter
Helicobacter
Capítulo 29: Bacilos Gram-Negativos Diversos
Bartonella
Bordetella
Outras Espécies de Bordetella
Brucella
Cardiobacterium
Francisella
Legionella
Streptobacillus
Capítulo 30: <i>Clostridium</i>
Clostridium difficile (Caso Clínico 30-1)
Clostridium perfringens
Clostridium tetani
Clostridium botulinum
Outras Espécies de Clostrídios
Capítulo 31: Bactérias Anaeróbias não Formadoras de Esporos
Cocos Gram-positivos Anaeróbios
Bacilos Gram-positivos Anaeróbios
Cocos Gram-negativos Anaeróbios
Bacilos Gram-negativos Anaeróbios
Capítulo 32: Treponema, Borrelia e Leptospira
Treponema

Leptospira

Capítulo 33: Mycoplasma e Ureaplasma

Fisiologia e Estrutura

Patogênese e Imunidade

Epidemiologia

Doenças Clínicas (Caso Clínico 33-1)

Diagnóstico Laboratorial (Tabela 33-2)

Tratamento, Prevenção e Controle

Capítulo 34: Rickettsia, Ehrlichia e Bactérias Relacionadas

Rickettsiaceae

Anaplasmataceae

Coxiellaceae

Capítulo 35: Chlamydia e Chlamydophila

Família Chlamydiaceae

Seção 5: Virologia

Capítulo 36: Classificação, Estrutura e Replicação dos Vírus

Classificação

Estrutura do Vírion

Replicação Viral

Genética Viral

Vetores Virais para Terapia

Capítulo 37: Mecanismos da Patogênese Viral

Etapas Básicas da Doença Viral

Infecção do Tecido-alvo

Patogênese Viral

Doença Viral

Epidemiologia

Controle da Disseminação Viral

Capítulo 38: O Papel dos Vírus nas Doenças

Doenças Virais

Infecções Crônicas e Potencialmente Oncogênicas

Infecções em Pacientes Imunocomprometidos

Infecções Congênitas, Neonatais e Perinatais

Capítulo 39: Diagnóstico Laboratorial de Doenças Virais

Coleta de Amostras

Citologia

Microscopia Eletrônica

Isolamento e Cultivo Virais

Detecção de Proteínas Virais

Detecção de Material Genético Viral

Sorologia Viral

Capítulo 40: Agentes Antivirais e Controle de Infecção

Alvos para Fármacos Antivirais

Análogos de Nucleosídeos

Inibidores da Polimerase do Tipo não Nucleosídeos

Inibidores da Protease

Fármacos Anti-influenza

Imunomoduladores

Controle da Infecção

Capítulo 41: Papilomavírus e Poliomavírus

Papilomavírus Humanos

Polyomaviridae

Capítulo 42: Adenovírus

Estrutura e Replicação

Patogênese e Imunidade

Epidemiologia

Síndromes Clínicas (Quadro 42-4)

Diagnóstico Laboratorial

Tratamento, Prevenção e Controle

Capítulo 43: Herpes-vírus Humanos

Estrutura dos Herpes-vírus

Replicação dos Herpes-vírus

Vírus do Herpes Simples

Vírus Varicela-zóster

Vírus Epstein-Barr

Citomegalovírus

Herpes-vírus Humanos 6 e 7

Outros Herpes-vírus Humanos

Capítulo 44: Poxvírus

Estrutura e Replicação

Patogênese e Imunidade

Epidemiologia

Síndromes Clínicas

Capítulo 45: Parvovírus

Estrutura e Replicação

Patogênese e Imunidade

Epidemiologia

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 45-1) Diagnóstico Laboratorial Tratamento, Prevenção e Controle Capítulo 46: Picornavírus Estrutura Replicação Enterovírus Rinovírus Capítulo 47: Coronavírus e Norovírus Coronavírus Norovírus Capítulo 48: Paramixovírus Estrutura e Replicação Vírus do Sarampo Vírus Parainfluenza Vírus da Caxumba Vírus Sincicial Respiratório Metapneumovírus Humano Vírus Nipah e Hendra Capítulo 49: Ortomixovírus Estrutura e Replicação Patogênese e Imunidade Epidemiologia Síndromes Clínicas (Quadro 49-4) Diagnóstico Laboratorial Tratamento, Prevenção e Controle Capítulo 50: Rabdovírus, Filovírus e Bornavírus Rabdovírus Filovírus Vírus da Doença de Borna Capítulo 51: Reovírus Estrutura Replicação Ortorreovírus (Reovírus de Mamíferos) Rotavírus Coltivírus e Orbivírus Capítulo 52: Togavírus e Flavivírus Alfavírus e Flavivírus

Vírus da Rubéola

Capítulo 53: Bunyaviridae e Arenaviridae

Bunyaviridae

Arenavírus

Capítulo 54: Retrovírus

Classificação

Estrutura

Replicação

Vírus da Imunodeficiência Humana

Vírus Linfotrópico de Células T Humanas e Outros Retrovírus Oncogênicos

Retrovírus Endógenos

Capítulo 55: Vírus da Hepatite

Vírus da Hepatite A

Vírus da Hepatite B

Vírus das Hepatites C e G

Vírus da Hepatite G

Vírus da Hepatite D

Vírus da Hepatite E

Capítulo 56: Doenças Causadas por Príons

Estrutura e Fisiologia

Patogênese

Epidemiologia

Síndromes Clínicas

Diagnóstico Laboratorial

Tratamento, Prevenção e Controle

Seção 6: Micologia

Capítulo 57: Classificação, Estrutura e Replicação dos Fungos

A Importância dos Fungos

Taxonomia, Estrutura e Reprodução dos Fungos

Ascomycota (Ascomicetos)

Basidiomycota (Basidiomicetos)

Glomeromycota (Mucormicetos, anteriormente Zigomicetos)

Microspora (Microsporídios)

Classificação das Micoses Humanas

Resumo

Capítulo 58: Patogênese das Doenças Fúngicas

Patógenos Fúngicos Primários

Patógenos Oportunistas

Capítulo 59: O Papel dos Fungos na Doença

Capítulo 60: Diagnóstico Laboratorial das Doenças Fúngicas

Diagnóstico Clínico das Infecções Fúngicas

Diagnóstico Laboratorial Convencional

Marcadores Imunológicos, Moleculares e Bioquímicos para a Detecção Direta de Doença Fúngica Invasiva

Capítulo 61: Agentes Antifúngicos

Agentes Antifúngicos Ativos Sistemicamente

Agentes Antifúngicos Tópicos

Agentes Antifúngicos em Avaliação

Combinação de Agentes Antifúngicos no Tratamento das Micoses

Mecanismos de Resistência aos Agentes Antifúngicos

Capítulo 62: Micoses Superficiais e Cutâneas

Micoses Superficiais

Micoses Cutâneas

Capítulo 63: Micoses Subcutâneas

Esporotricose Linfocutânea

Cromoblastomicose

Micetoma Eumicótico

Entomoftoromicose Subcutânea

Feo-hifomicose Subcutânea

Capítulo 64: Micoses Sistêmicas Causadas por Fungos Dimórficos

Blastomicose

Coccidioidomicose

Emmonsiose

Histoplasmose

Paracoccidioidomicose

Talaromicose (Peniciliose) marneffei

Capítulo 65: Micoses Oportunistas

Candidíase

Micoses Oportunistas Causadas por Criptococcus neoformans e Outras Leveduras não Candida

Microsporídios

Aspergilose

Mucormicoses

Micoses Causadas por Outros Fungos Hialinos

Feo-hifomicose

Pneumocistose

Capítulo 66: Infecções Fúngicas ou Similares de Etiologia Incomum ou Incerta

Adiaspiromicose

Clorelose

Lacaziose (Lobomicose)

Prototecose

Lagenidiose Rinosporidiose Capítulo 67: Micotoxinas e Micotoxicoses **Aflatoxinas** Citrinina Alcaloides do Ergot **Fumonisinas** Ocratoxina Tricotecenos Outras Micotoxinas e Supostas Micotoxicoses Seção 7: Parasitologia Capítulo 68: Classificação, Estrutura e Replicação Parasitária Importância dos Parasitas Classificação e Estrutura Fisiologia e Replicação Resumo Capítulo 69: Patogênese das Doenças Parasitárias Exposição e Invasão Aderência e Replicação Dano Celular e Tecidual Destruição, Evasão e Inativação das Defesas do Hospedeiro Capítulo 70: O Papel dos Parasitas na Doença Capítulo 71: Diagnóstico Laboratorial da Doença Parasitária O Ciclo de Vida do Parasita como Auxiliar no Diagnóstico Considerações Gerais sobre o Diagnóstico Infecções Parasitárias dos Tratos Intestinal e Urogenital Infecções Parasitárias do Sangue e dos Tecidos Alternativas à Microscopia Capítulo 72: Agentes Antiparasitários Alvos para a Ação de Fármacos Antiparasitários Resistência a Fármacos Agentes Antiparasitários Capítulo 73: Protozoários Intestinais e Urogenitais **Amebas** Flagelados Ciliados

Pitiose insidiosa

Esporozoa (coccídios)

Capítulo 74: Protozoários do Sangue e dos Tecidos Espécies de Plasmodium Espécies de Babesia Toxoplasma gondii Sarcocystis lindemanni

Amebas de Vida Livre

Leishmania

Tripanossomos

Capítulo 75: Nematoides

Enterobius vermicularis

Ascaris lumbricoides

Toxocara e Baylisascaris

Trichuris trichiura

Ancilostomídeos (Vermes com ganchos)

Strongyloides stercoralis

Trichinella spiralis

Wuchereria bancrofti e Brugia malayi

Loa loa

Espécies de Mansonella

Onchocerca volvulus

Dirofilaria immitis

Dracunculus medinensis

Capítulo 76: Trematódeos

Fasciolopsis buski

Fasciola hepatica

Clonorchis sinensis

Paragonimus westermani

Esquistossomos

Capítulo 77: Cestoides

Taenia solium

Cisticercose

Taenia saginata

Diphyllobothrium latum

Esparganose

Echinococcus granulosus

Echinococcus multilocularis

Hymenolepis nana

Hymenolepis diminuta

Dipylidium caninum

Capítulo 78: Artrópodes

Myriapoda

Crustacea

Chelicerata (Arachnida) Hexapoda (Insecta)

Índice

Copyright

© 2017 Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados e protegidos pela Lei 9.610 de 19/02/1998.

Nenhuma parte deste livro, sem autorização prévia por escrito da editora, poderá ser reproduzida ou transmitida sejam quais forem os meios empregados: eletrônicos, mecânicos, fotográficos, gravação ou quaisquer outros.

ISBN: 978-85-352-8575-8

ISBN versão eletrônica: 978-85-352-8645-8

MEDICAL MICROBIOLOGY 8th EDITION

Copyright © 2016, Elsevier Inc. All rights reserved.

Previous editions copyrighted 2013, 2009 2005, 2002, 1998, 1994, 1990.

This translation of Medical Microbiology, 8th Edition, by Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller was undertaken by Elsevier Editora Ltda and is published by arrangement with Elsevier Inc.

Esta tradução de Medical Microbiology, 8th Edition, de Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller, foi produzida por Elsevier Editora Ltda e publicada em conjunto com Elsevier Inc.

ISBN: 978-0-323-29956-5

Capa

[Studio Creamcrackers - Aline Haluch]

Editoração Eletrônica

Thomson Digital

Elsevier Editora Ltda.

Conhecimento sem Fronteiras

Rua Sete de Setembro, n° 111 – 16° andar 20050-006 – Centro – Rio de Janeiro – RJ

Rua Quintana, n° 753 – 8° andar 04569-011 – Brooklin – São Paulo – SP

Serviço de Atendimento ao Cliente 0800 026 53 40

atendimento1@elsevier.com

Consulte nosso catálogo completo, os últimos lançamentos e os serviços exclusivos no site www.elsevier.com.br

Nota

Como as novas pesquisas e a experiência ampliam o nosso conhecimento, pode haver necessidade de alteração dos métodos de pesquisa, das práticas profissionais ou do tratamento médico. Tanto médicos quanto pesquisadores devem sempre basear-se em sua própria experiência e conhecimento para avaliar e empregar quaisquer informações, métodos, substâncias ou experimentos descritos neste texto. Ao utilizar qualquer informação ou método, devem ser criteriosos com relação a sua própria segurança ou a segurança de outras pessoas, incluindo aquelas sobre as quais tenham responsabilidade profissional.

Com relação a qualquer fármaco ou produto farmacêutico especificado, aconselha-se o leitor a cercar-se da mais atual informação fornecida (i) a respeito dos procedimentos descritos, ou (ii) pelo fabricante de cada produto a ser administrado, de modo a certificar-se sobre a dose recomendada ou a fórmula, o método e a duração da administração, e as contraindicações. É responsabilidade do médico, com base em sua experiência pessoal e no conhecimento de seus pacientes, determinar as posologias e o melhor tratamento para cada paciente individualmente, e adotar todas as precauções de segurança apropriadas.

Para todos os efeitos legais, nem a Editora, nem autores, nem editores, nem tradutores, nem revisores ou colaboradores, assumem qualquer responsabilidade por qualquer efeito danoso e/ou malefício a pessoas ou propriedades envolvendo

responsabilidade, negligência etc. de produtos, ou advindos de qualquer uso ou emprego de quaisquer métodos, produtos, instruções ou ideias contidos no material aqui publicado.

O Editor

CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ

M962m 8. ed.

Murray, Patrick R.

Microbiologia médica / Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller. - 8. ed. - Rio de Janeiro : Elsevier, 2017. 848 p. : il. ; 27 cm.

Tradução de: Medical microbiology

Inclui índice

ISBN 978-85-352-8575-8

1. Microbiologia médica. I. Rosenthal, Ken S. II. Pfaller, Michael A. III. Título.

16-37958 CDD: 616.9041 CDU: 579.61



Dedicatória

• A todos que usarem este livro, que possam se beneficiar do seu uso assim como nós nos beneficiamos durante sua preparação

Revisão Científica e Tradução

Revisão Científica

Sílvia de Barros-Mazon

Professora Doutora em Imunologia Departamento de Patologia Clínica Faculdade de Ciências Médicas Universidade Estadual de Campinas Campinas, SP, Brasil

Joaquim Procopio de Araujo Filho

Professor Associado Departamento de Fisiologia e Biofísica Instituto de Ciências Biomédicas Universidade de São Paulo São Paulo, Brasil

Tradução

GEA Consultoría Editorial

Prefácio

O nosso conhecimento sobre microbiologia e imunologia está em constante crescimento, e, com a construção de uma boa base de conhecimento inicial, será muito mais fácil entender os avanços do futuro.

A microbiologia médica pode ser um campo confuso para os novatos. Nós nos deparamos com muitas perguntas quando aprendemos microbiologia: Como aprender todos os nomes? Que agentes infecciosos causam que tipo de doenças? Por quê? Quando? Quem está em risco? Existe tratamento? Todas essas preocupações, no entanto, podem ser reduzidas a uma única questão essencial: Quais informações preciso saber para me ajudar a entender como diagnosticar e tratar um paciente infectado?

Certamente, existem inúmeras teorias sobre o que um estudante precisa saber e como ensinar isso; essas teorias supostamente validam a quantidade excessiva de livros-texto de microbiologia, que lotam as prateleiras das livrarias nos últimos anos. Embora não afirmemos ter a maneira certa de abordar o ensino de microbiologia médica (não existe realmente uma maneira perfeita de se abordar a educação médica), fundamentamos a revisão deste livro em nossa experiência adquirida ao longo de anos ensinando a estudantes de Medicina, residentes e colegas da área de doenças infecciosas, assim como no trabalho dedicado às sete edições anteriores. Tentamos apresentar os conceitos básicos da microbiologia médica de forma clara e sucinta para que sejam adequados aos diferentes tipos de estudantes. O texto é escrito de maneira direta, com, esperamos, explicações simples para conceitos difíceis. Nesta edição, desafiamo-nos a melhorar ainda mais a experiência da aprendizagem. Utilizamos a nova tecnologia no StudentConsult (versão eletrônica) para melhorar o acesso à informação. Além disso, incluímos resumos dos capítulos e material auxiliar à aprendizagem no início de cada um dos capítulos de micróbios; na versão eletrônica, eles estão associados às seções apropriadas do capítulo. Muitas figuras foram melhoradas para auxiliar a aprendizagem. Detalhes são resumidos no formato de tabelas, em vez de longos textos, e há ilustrações coloridas para aprendizado visual. Casos Clínicos proporcionam a relevância que fornece realidade à ciência básica. Pontos importantes estão enfatizados em quadros para auxiliar os estudantes, especialmente nesta revisão; e as questões de estudo, incluindo os Casos Clínicos, abordam aspectos relevantes de cada capítulo. Cada seção (bactérias, vírus, fungos e parasitas) é iniciada com um capítulo que resume doenças microbianas e também fornece material para revisão.

Nosso conhecimento de microbiologia e imunologia está se expandindo rapidamente com novas e fascinantes descobertas em todas as áreas. Utilizamos nossa experiência como professores e autores para selecionar as informações e explicações mais importantes para incluir neste livro. Os capítulos foram cuidadosamente atualizados e expandidos com a inclusão de descobertas novas e relevantes à medicina. Em cada um deles, objetivamos apresentar o conteúdo que ajudará o aluno a se interessar pelo assunto, bem como a ter uma compreensão clara do significado dos micróbios individuais e das suas doenças.

A cada edição de Microbiologia Médica refinamos e atualizamos a nossa apresentação. Há muitas mudanças nesta oitava edição, tanto na versão impressa como na versão eletrônica. O livro começa com uma introdução à Microbiologia e novos capítulos sobre o microbioma humano e a epidemiologia de doenças infecciosas. O microbioma humano (ou seja, a população normal de organismos que habita o nosso corpo) pode ser considerado hoje em dia como outro sistema de órgãos, representando uma população com 10 vezes o número de células humanas. Tal microbiota educa a resposta imune, ajuda a digerir os alimentos e nos protege contra os microrganismos mais prejudiciais. Os capítulos adicionais, na seção introdutória, expõem as técnicas utilizadas pelos microbiologistas e imunologistas, e os capítulos subsequentes abordam o sistema imunológico funcional. As células e os tecidos imunes são apresentados, e, na sequência, há um capítulo aprimorado sobre imunidade inata e capítulos atualizados sobre imunidade antígeno-específica, imunidade antimicrobiana e vacinas. As seções sobre bactérias, vírus, fungos e parasitas também foram reorganizadas. Cada uma delas começa com a apresentação dos capítulos de bases científicas relevantes, seguida de um capítulo que resume doenças microbianas específicas, antes de prosseguir para um capítulo com a descrição dos micróbios propriamente ditos, o "desfile dos germes". Cada capítulo sobre os micróbios específicos começa com um resumo (incluindo palavras-gatilho) que está associado à parte adequada do capítulo na versão eletrônica. Assim como nas edições anteriores, existem muitas informações resumidas em quadros, tabelas, fotografias clínicas e casos clínicos originais. Os Casos Clínicos estão incluídos, pois acreditamos que os estudantes vão considerá-los particularmente interessantes e instrutivos, e eles são uma forma muito eficiente de se apresentar esse assunto complexo. Cada capítulo no "desfile dos germes" é iniciado por questões relevantes para incentivar e orientar os alunos a como explorar o capítulo. Finalmente, os estudantes contam com o acesso ao novo website Student Consult, que faz conexões com material de referência adicional, fotografias clínicas, animações (incluindo novas animações), respostas às questões introdutórias e de questões-resumo de cada capítulo. Muitas das figuras são apresentadas de forma gradual para facilitar a aprendizagem. Uma característica muito importante do material on-line é o acesso a mais de 200 questões práticas de exame que ajudarão os alunos a avaliar o seu domínio dos

assuntos e a se preparar para as provas do curso e de licenciamento. Em essência, esta edição oferece texto, detalhes, questões, exemplos e uma revisão do conteúdo: tudo em um único livro, de forma compreensível.

Aos Nossos Futuros Colegas: Os Estudantes

À primeira impressão, o sucesso na microbiologia médica parece depender de memorização. A microbiologia parece consistir somente em fatos inumeráveis, mas existe também uma lógica na microbiologia e na imunologia. Como um médico detetive, o primeiro passo é conhecer o seu vilão. Os micróbios estabelecem um nicho nos nossos corpos; alguns são benéficos e nos ajudam a digerir os alimentos e a educar o nosso sistema imunológico, enquanto outros podem causar doença. As suas capacidades para causar doença e a doença que deles pode resultar dependem de como o micróbio interage com o hospedeiro e das respostas protetoras inatas e imunes que são geradas.

Existem muitas maneiras de abordar o ensino da microbiologia e da imunologia, mas, fundamentalmente, quanto mais você interage com o material usando os diversos sentidos, mais você memorizará e aprenderá. Uma forma eficiente e divertida de aprender é pensar como um médico e tratar cada micróbio e suas doenças como se fossem uma infecção em seu paciente. Crie um paciente para cada infecção microbiana e compare os contrastes dos diferentes pacientes. Crie uma cena e então pergunte as sete questões básicas: Quem? Onde? Quando? Por quê? Qual? O quê? e Como? Por exemplo: quem está em risco de contrair a doença? Onde esse organismo causa infecções (tanto no corpo quanto em qual área geográfica)? Quando o isolamento desse organismo é importante? Por que esse organismo é capaz de causar doenças? Quais espécies e gêneros são de importância médica? Que testes diagnósticos devem ser feitos? Como se pode lidar com essa infecção? Cada organismo que é encontrado pode ser examinado sistematicamente. Use o seguinte acrônimo para criar um caso clínico e aprender a informação essencial relativa a cada micróbio: DIVIRDEPT. Como é que a doença microbiana se manifesta no paciente e qual o seu diagnóstico diferencial? Como você confirmaria o diagnóstico e identificaria a causa microbiana da doença? Quais são as propriedades de virulência do organismo que causa a doença? Quais são os aspectos úteis e nocivos da resposta inata e imune à infecção? Quais são as condições ou mecanismos específicos da replicação do micróbio? Qual é o conjunto completo de características da doença e suas consequências? Qual é a epidemiologia da infecção? Como você pode prevenir a doença? Qual é o tratamento? As respostas às questões DIVIRDEPT exigirão que o leitor explore o capítulo para encontrar a informação, mas isso o ajudará a aprender a matéria. Para cada um dos micróbios, aprenda de três a cinco palavras ou frases que estão a ele associadas — palavras que vão estimular a sua memória (palavras-gatilho, fornecidas no novo resumo do capítulo) e organize os diversos fatos em um quadro de raciocínio lógico. Desenvolva associações alternativas. Por exemplo, este livro apresenta organismos em sua estrutura taxonômica sistemática (frequentemente chamada de "desfile de germes", que os autores acreditam ser a forma mais fácil de apresentar os organismos). Utilize uma determinada propriedade de virulência (p. ex., produção de toxinas) ou tipo de doença (meningite) e liste os organismos que compartilham essa propriedade. Pense que um paciente imaginário está infectado com um agente específico e crie uma história para o caso. Explique o diagnóstico para o seu paciente imaginário e também para seus futuros colegas de profissão. Em outras palavras, não tente simplesmente memorizar página após página de conteúdos; em vez disso, use técnicas que estimulem sua mente e desafiem seu entendimento dos fatos apresentados ao longo do texto, e será mais divertido. Use o resumo do capítulo no início da seção de cada organismo para rever e ajudar a refinar o seu "diagnóstico diferencial" e classificar os organismos em "caixas" lógicas. Familiarize-se com o livro e seus materiais-bônus e você não só aprenderá a matéria, como também terá um livro de revisão a partir do qual poderá trabalhar no futuro.

Nenhum livro dessa magnitude seria bem-sucedido sem as contribuições de muitas pessoas. Somos gratos pelo valioso apoio e pela ajuda profissional fornecidos pelos funcionários da Elsevier, particularmente Jim Merritt, Katie DeFrancesco e Rhoda Howell. Também queremos agradecer aos muitos estudantes e colegas de profissão que nos ofereceram conselhos e críticas construtivas ao longo do desenvolvimento desta oitava edição de *Microbiologia Médica*.

Patrick R. Murray, PhD Ken S. Rosenthal, PhD Michael A. Pfaller, MD

SEÇÃO 1

Introdução

Capítulo 1: Introdução à Microbiologia Médica

Capítulo 2: Microbioma Humano na Saúde e na Doença

Capítulo 3: Esterilização, Desinfecção e Antissepsia

Introdução à Microbiologia Médica

Imagine o entusiasmo sentido pelo biólogo holandês Anton van Leeuwenhoek em 1674 quando, ao olhar através de suas lentes de microscópio cuidadosamente posicionadas sobre uma gota de água, descobriu um mundo de milhões de minúsculos "animálculos". Quase 100 anos mais tarde, o biólogo dinamarquês Otto Müller ampliou os estudos de van Leeuwenhoek e organizou as bactérias em gêneros e espécies de acordo com os métodos de classificação de Carolus Linnaeus. Esse foi o início da classificação taxonômica dos micróbios. Em 1840, o patologista alemão Friedrich Henle propôs critérios para provar que os microrganismos eram responsáveis por causar doenças em seres humanos (a "teoria do germe da doença" ou "teoria germinal da doença"). Robert Koch e Louis Pasteur confirmaram essa teoria nas décadas de 1870 e 1880, com uma série de experimentos elegantes que provaram que os microrganismos eram responsáveis por causar antraz, raiva, peste, cólera e tuberculose. Outros cientistas brilhantes continuaram provando que um conjunto diverso de micróbios era responsável por causar doenças em seres humanos. A era da quimioterapia começou em 1910, quando o químico alemão Paul Ehrlich descobriu o primeiro agente antibacteriano, um composto eficaz contra a espiroqueta causadora da sífilis. Esse fato foi seguido das descobertas da penicilina por Alexander Fleming em 1928, da sulfonamida em 1935 por Gerhard Domagk e da estreptomicina por Selman Waksman em 1943. Em 1946, o microbiologista americano John Enders foi o primeiro a cultivar vírus em cultura de células, o que levou à produção de culturas de vírus em larga escala para o desenvolvimento de vacinas. Milhares de cientistas seguiram esses pioneiros, baseando-se nos fundamentos estabelecidos pelos seus antecessores, e cada um adicionando uma observação que ampliou nossa compreensão sobre os micróbios e o

O conhecimento atual da microbiologia está passando por uma notável transformação resultante dos rápidos avanços tecnológicos na análise do genoma. O Projeto Genoma Humano foi um programa multinacional concluído em 2005 com o sequenciamento completo do genoma humano. As técnicas desenvolvidas para esse programa foram rapidamente absorvidas pelos laboratórios de investigação e clínicos, dando origem ao sequenciamento microbiano e revelando novos conhecimentos sobre as propriedades patogênicas dos organismos, suas relações taxonômicas e os atributos funcionais da população microbiana endógena. Claramente, estamos nos estágios iniciais de novas abordagens para o diagnóstico e terapêutica com base na monitorização e manipulação desta população, o microbioma.

O mundo descoberto por van Leeuwenhoek era complexo, consistindo em protozoários e bactérias de todas as formas e tamanhos. Entretanto, sabemos atualmente que a complexidade da microbiologia médica concorre com os limites da imaginação. Hoje, temos o conhecimento de que existem milhares de diferentes tipos de microrganismos que vivem no interior, sobre e ao redor de nossos corpos — e centenas que causam sérias doenças humanas. Para compreender essa informação, e organizá-la de maneira útil, é importante entender alguns dos aspectos básicos da microbiologia médica. Para iniciar, os micróbios podem ser subdivididos em quatro grupos gerais: os vírus, as bactérias, os fungos e os parasitas, cada um apresentando o seu próprio grau de complexidade.

Vírus

Os vírus são as menores partículas infecciosas, variando em diâmetro de 18 a 600 nanômetros (a maioria dos vírus mede < 200 nm e não pode ser visualizada ao microscópio óptico). Os vírus contêm tipicamente ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA), mas não os dois; entretanto, algumas partículas semelhantes aos vírus não contêm ácido nucleico detectável (p.ex., príons), enquanto o recém-descoberto mimivírus contém ambos, RNA e DNA. Os ácidos nucleicos virais requeridos para a replicação estão contidos em um capsídeo proteico com ou sem um envelope lipídico. Os vírus são parasitas verdadeiros, pois dependem da célula hospedeira para a replicação. As células que eles infectam e a resposta do hospedeiro à infecção ditam a natureza das manifestações clínicas. Mais de 2.000 espécies de vírus já foram descritas, sendo que aproximadamente 650 infectam os seres humanos e animais. A infecção pode levar a uma rápida replicação e destruição da célula ou a uma relação crônica de longo prazo, com a possível integração da informação genética viral no genoma do hospedeiro. Os fatores que determinam qual desses processos acontecerá são apenas parcialmente compreendidos. Por exemplo, a infecção com o vírus da imunodeficiência humana, o agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), pode resultar em uma infecção latente dos linfócitos CD4 ou na replicação ativa e destruição dessas células imunologicamente importantes. De modo similar, a infecção pode se espalhar para outras células susceptíveis, como as células microgliais do cérebro, resultando nas manifestações neurológicas da AIDS. O vírus determina a doença, que pode variar desde o resfriado comum ou uma gastroenterite até infecções fatais como a raiva, ebola, varíola ou AIDS.

Bactérias

As bactérias apresentam uma estrutura relativamente simples. São organismos **procariotos** — organismos unicelulares simples, que não apresentam membrana nuclear, mitocôndria, complexo de Golgi ou retículo endoplasmático — que se reproduzem por divisão assexuada. A parede bacteriana é complexa, consistindo em uma ou duas formas básicas: em bactérias Gram-positivas, uma parede celular com uma camada espessa de peptidoglicano; em bactérias Gram-negativas, uma parede celular com uma camada fina de peptidoglicano e uma membrana externa sobreposta. Algumas bactérias não apresentam essa estrutura de parede celular e compensam sua falta sobrevivendo apenas no interior da célula hospedeira ou em um ambiente hipertônico. O tamanho (1 a 20 µm ou maior), a forma (esferas, bastões, espirais) e o arranjo espacial (células únicas, cadeias, grupos/agrupamentos) das células são utilizados para a classificação preliminar das bactérias, e as propriedades fenotípicas e genotípicas constituem a base para a classificação definitiva. O corpo humano é habitado por milhares de diferentes espécies bacterianas — algumas vivendo de forma transitória, outras em uma relação parasitária permanente. Do mesmo modo, as bactérias estão presentes no ambiente que nos cerca, incluindo o ar que respiramos, a água que bebemos e a comida que comemos, sendo que muitas dessas bactérias são relativamente não virulentas, mas outras são capazes de causar doenças que ameaçam a vida. A doença pode resultar do efeito tóxico de produtos bacterianos (p.ex., toxinas) ou quando a bactéria invade tecidos e fluidos anatômicos que são, em geral, estéreis.

Fungos

Ao contrário das bactérias, a estrutura celular dos fungos é mais complexa. Os fungos são organismos **eucariotos** que contêm um núcleo bem-definido, mitocôndria, complexo de Golgi e retículo endoplasmático. Os fungos podem existir em forma unicelular (**levedura**), que se replica assexuadamente, ou em uma forma filamentosa (**fungo filamentoso**), que pode se replicar sexuada e assexuadamente. A maioria dos fungos existe como leveduras ou bolores; entretanto, alguns podem assumir ambas as morfologias. Estes últimos são conhecidos como fungos **dimórficos** e incluem organismos como *Histoplasma*, *Blastomyces* e *Coccidioides*.

Parasitas

Os parasitas são os micróbios mais complexos. Embora todos os parasitas sejam classificados como eucariotos, alguns são unicelulares e outros multicelulares. Eles variam em tamanho desde protozoários minúsculos, medindo de 4 a 5 µm em diâmetro (o tamanho de algumas bactérias), até tênias, que chegam a 10 metros de comprimento, e artrópodes. Na verdade, considerando o tamanho de alguns desses parasitas, é difícil imaginar como esses organismos podem ser classificados como micróbios. Seus ciclos de vida são igualmente complexos, com alguns parasitas estabelecendo uma relação permanente com os seres humanos e outros passando por uma série de estágios de desenvolvimento em diferentes hospedeiros animais. Uma das dificuldades encontradas pelos estudantes é não só a compreensão do espectro da doença causada por parasitas, mas também o conhecimento da epidemiologia dessas infecções, o que é vital para o desenvolvimento do diagnóstico diferencial e da abordagem para o controle e prevenção das infecções parasitárias.

Imunologia

É difícil discutir microbiologia humana sem também discutir as respostas imunológicas inatas e adaptativas aos micróbios. Nossas respostas inatas e adaptativas evoluíram para nos proteger das infecções. Ao mesmo tempo, os micróbios que vivem em nossos corpos, como parte da flora normal ou causando doenças, devem ser capazes de resistir ou evadir das proteções do hospedeiro por período suficiente que os permitam estabelecer seus nichos em nossos corpos ou se disseminar para novos hospedeiros. O dano periférico que ocorre durante a batalha entre o sistema de defesa do hospedeiro e os invasores microbianos contribui ou pode ser a causa dos sintomas da doença. Por fim, as respostas inatas e adaptativas são as melhores formas de prevenção e cura das doenças microbianas.

Doença Microbiana

Uma das razões mais importantes de se estudar os micróbios é compreender as doenças que eles causam e as maneiras de controlá-las. Infelizmente, a relação entre muitos organismos e as doenças causadas por eles não é simples. De maneira específica, a maioria dos organismos não causa uma única doença bem definida, apesar de existirem alguns que o façam (p.ex., Clostridium tetani [tétano]; vírus Ebola [Ebola]; espécies de Plasmodium [malária]). É mais comum um determinado organismo produzir muitas manifestações de doença (p.ex., Staphylococcus aureus — endocardite, pneumonia, infecções de feridas, intoxicação alimentar) ou muitos organismos produzirem a mesma doença (p.ex., meningites causadas por vírus, bactérias, fungos e parasitas). Além disso, relativamente poucos organismos podem ser classificados sempre como patogênicos, embora alguns pertençam a essa categoria (p.ex., vírus da raiva, Bacillus anthracis, Sporothrix schenckii, espécies de Plasmodium). A maioria dos organismos é capaz de estabelecer doença apenas sob circunstâncias bem definidas (p.ex., a presença de um organismo com potencial para causar doença em locais normalmente estéreis, como cérebro, pulmões e cavidade peritoneal). Algumas doenças surgem quando um indivíduo é exposto a organismos oriundos de fontes externas. Essas são conhecidas como infecções exógenas, e exemplos incluem as doenças causadas pelo vírus da influenza, por C.

tetani, Neisseria gonorrhoeae, Coccidioides immitis e Entamoeba histolytica. No entanto, a maioria das doenças humanas é produzida por organismos da própria flora normal do indivíduo, que invadem regiões anatômicas via de regra estéreis, onde então a doença pode ocorrer (infecções endógenas).

É complexa a interação entre um organismo e o hospedeiro humano. Ela pode resultar em colonização transitória, em uma relação simbiótica de longo prazo ou em doença. A virulência do organismo, o local de exposição e a capacidade do hospedeiro em responder ao organismo determinam o resultado da interação. Assim, as manifestações da doença podem variar desde sintomas leves até a falência de órgãos e a morte. O papel da virulência microbiana e da resposta imunológica do hospedeiro é discutido em profundidade nos capítulos subsequentes.

O corpo humano é notavelmente adaptado para controlar a exposição aos micróbios patogênicos. As barreiras físicas previnem a invasão pelos micróbios; as respostas inatas reconhecem padrões moleculares nos componentes microbianos e ativam as defesas locais e as respostas imunes adaptativas específicas, que atacam o micróbio para sua eliminação. Infelizmente e com frequência, a resposta imune é muito tardia ou muito lenta. Para melhorar a capacidade do corpo humano em prevenir infecções, o sistema imune pode ser amplificado, tanto pela transferência passiva de anticorpos presentes em preparações de imunoglobulinas quanto pela imunização ativa com componentes dos micróbios (vacinas). As infecções também podem ser controladas com uma variedade de agentes quimioterápicos. Infelizmente, os micróbios podem sofrer mutações e compartilhar informação genética, e aqueles que não forem reconhecidos pela resposta imune devido à variação antigênica ou aqueles que forem resistentes aos antibióticos serão selecionados e persistirão. Dessa maneira, a batalha pelo controle entre micróbios e hospedeiro continua, com nenhum dos dois lados sendo ainda capaz de reivindicar a vitória (ainda que os micróbios tenham demonstrado uma capacidade notável). Claramente, não existe uma "varinha de condão" capaz de erradicar as doenças infecciosas.

Microbiologia Diagnóstica

O laboratório de microbiologia clínica tem um importante papel no diagnóstico e controle das doenças infecciosas. Porém, a competência do laboratório em realizar tais funções é limitada pela qualidade do espécime clínico coletado do paciente, pela maneira como o espécime é transportado para o laboratório e pelas técnicas usadas para detectar o micróbio na amostra. Pelo fato da maioria dos testes diagnósticos ser baseada na capacidade de crescimento do organismo, as condições de transporte devem assegurar a viabilidade do patógeno. Além disso, os testes mais sofisticados serão de pouco valor se o espécime clínico coletado não for representativo do local da infecção. Isso parece óbvio, mas muitos espécimes clínicos enviados ao laboratório para análise são contaminados durante a coleta com organismos que colonizam as superfícies das mucosas. É praticamente impossível interpretar os resultados de testes com espécimes clínicos contaminados, porque a maioria das infecções é causada por organismos endógenos.

O laboratório é também capaz de determinar a atividade antimicrobiana de agentes quimioterápicos selecionados, embora o valor desses testes seja limitado. O laboratório deve testar só os microrganismos capazes de produzir doença e somente os antimicrobianos clinicamente relevantes. Testar todos os organismos isolados ou uma seleção empírica indiscriminada de fármacos pode produzir resultados de difícil interpretação, com consequências potencialmente perigosas. Não apenas um paciente pode ser tratado de maneira inadequada com antibióticos desnecessários, mas também o microrganismo patogênico verdadeiro pode não ser reconhecido entre a grande variedade de organismos isolados e testados. Finalmente, a determinação *in vitro* da suscetibilidade de um organismo a uma variedade de antibióticos é somente um aspecto de um quadro complexo. A virulência do organismo, o local da infecção e a capacidade do paciente em responder à infecção influenciam a interação parasita-hospedeiro e também devem ser considerados quando o tratamento for planejado.

Resumo

É importante reconhecer que nosso conhecimento do mundo microbiano está em constante evolução. Assim como os primeiros microbiologistas fizeram suas descobertas utilizando as bases estabelecidas pelos seus antecessores, nós e as futuras gerações continuaremos a descobrir novos micróbios, novas doenças e novas terapias. Os capítulos a seguir pretendem servir de base de conhecimento para construir sua compreensão sobre os micróbios e suas doenças.

CAPÍTULO 2

Microbioma Humano na Saúde e na Doença

Até o momento do nascimento, o feto humano vive em um ambiente particularmente protegido e, na maior parte do tempo, estéril; no entanto, essa situação muda rapidamente à medida que a criança fica exposta a bactérias, arqueas, fungos e vírus provenientes da mãe, de outros contatos próximos e do meio ambiente. Ao longo dos anos seguintes, várias comunidades de organismos (microbiota ou flora normal [Tabela 2-1]) formam-se na superfície cutânea, narinas, cavidade oral, intestinos e trato geniturinário. O foco deste capítulo é obter uma compreensão do papel dessas comunidades nas funções metabólicas e imunológicas de indivíduos saudáveis, dos fatores que regulam a composição dessas comunidades e de como a sua perturbação pode resultar em situações de doença.



Tabela 2-1

Glossário de Termos

Termo	Definição
Microbiota	Comunidade de micróbios que vive dentro e sobre um indivíduo; pode variar substancialmente entre os locais ambientais e nichos do hospedeiro, na saúde e na doença
Flora normal	Microbiota
Microbioma Microbioma comum Microbioma secundário	Conjunto agregado de genomas bacterianos na microbiota Espécies microbianas compartilhadas, frequentemente entre indivíduos em locais específicos do corpo; embora, via de regra, o microbioma esteja representado por um número limitado de espécies, estas compreendem a maior proporção da população microbiana Espécies microbianas que contribuem para a diversidade única de cada indivíduo em locais específicos do corpo; tipicamente presentes em números proporcionalmente reduzidos
Redundância funcional	Funções indispensáveis (p.ex., metabolismo dos nutrientes, regulação da resposta imunológica) que são desempenhadas pelos diversos membros da microbiota
Diversidade taxonômica	O diverso número de espécies que compreende a microbiota
Prebiótico	Ingrediente alimentar que estimula o crescimento de um ou mais membros da microbiota
Probiótico	Organismo vivo que, quando ingerido, gera a crença de que fornece benefício ao hospedeiro

Projeto Microbioma Humano

Nosso atual conhecimento do **microbioma** está enraizado na conclusão bem-sucedida do Projeto Genoma Humano, um esforço internacional de 13 anos, iniciado em 1990, que determinou as sequências dos cerca de 3 bilhões de nucleotídeos que compõem os 23.000 genes codificadores de proteínas no DNA humano. De forma comparável aos esforços para enviar um homem à lua, o maior legado desse trabalho foi o desenvolvimento de tecnologias e soluções informáticas que permitiram a geração e análise de enormes quantidades de dados de sequenciamento de DNA e RNA mensageiro.

O Projeto Microbioma Humano foi um estudo multinacional de 5 anos com o objetivo de analisar a composição genética (microbioma) das populações microbianas que vivem no interior e no exterior dos corpos de adultos saudáveis. Para colocar a complexidade desse programa em perspectiva, estima-se que as células bacterianas excedam as células do hospedeiro humano em uma razão de 10:1 e que a população bacteriana contribua com, pelo menos, 300 vezes mais genes codificadores de proteínas.

O Projeto Microbioma Humano foi lançado em 2007 com a coleta de amostras de nariz, boca, pele, intestino e vagina de voluntários adultos saudáveis. Os micróbios foram identificados pelo sequenciamento de regiões-alvo do gene do RNA ribossomal 16S, e informações sobre o conteúdo genético de toda a população foram determinadas a partir do sequenciamento do genoma completo de um subconjunto das amostras. Essas análises mostraram que há uma variação substancial na composição de espécies e genes entre os indivíduos e em diferentes lugares do corpo. Por exemplo, as

bactérias que colonizam o intestino são diferentes das existentes na boca, na pele e em outros locais do corpo. O intestino foi o local com maior diversidade taxonômica e genética, e a vagina foi o menos complexo. Microambientes, como diferentes regiões da boca, do intestino, da pele e da vagina também demonstraram possuir microbioma próprio único (Fig. 2-1).

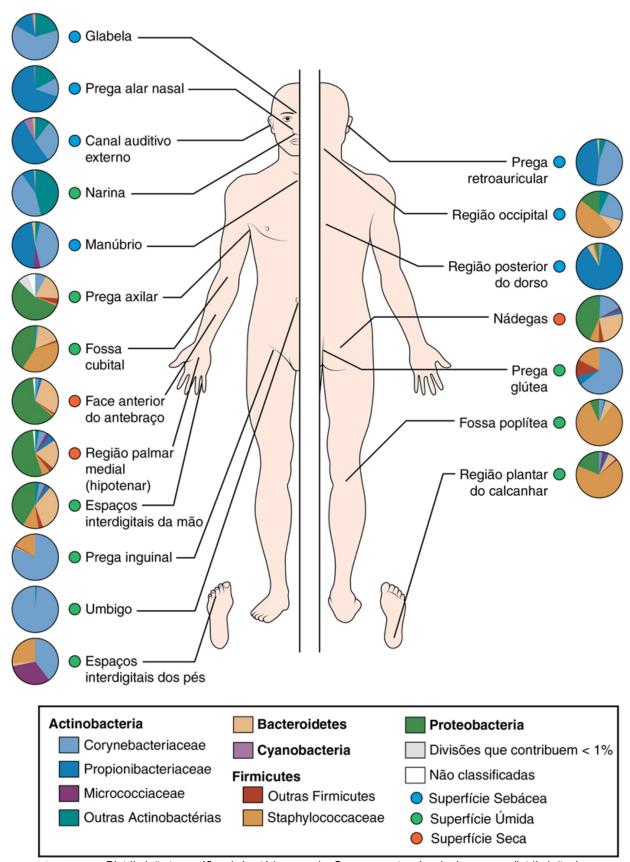


FIGURA 2-1 Distribuição topográfica de bactérias na pele. Como em outros locais do corpo, a distribuição do microbioma cutâneo é dependente do microambiente do local da amostra, tais como as superfícies sebáceas ou oleosas (círculos azuis), úmidas (círculos verdes), e planas e secas (círculos vermelhos). (Fonte: Grice E, Segre J: The skin microbiome, Nat Rev Microbiol 9:244–253, 2011.)

Microbioma Central (Core)

A maioria dos indivíduos compartilha um microbioma central, arbitrariamente definido como o conjunto de espécies presentes em um local específico em 95% ou mais dos indivíduos. O maior número de espécies compartilhadas está na boca, seguido do nariz, do intestino e da pele, e as espécies menos compartilhadas são encontradas na vagina. Além disso, o pequeno número de espécies que constitui o microbioma central é o mais numeroso, representando a maior parte da população total, ao passo que a porção restante da população (microbioma secundário) consiste em um número reduzido de várias espécies que podem não ser amplamente compartilhadas pelos indivíduos. Isso implicaria a extrema importância dos membros do microbioma central ao desempenhar funções essenciais para a preservação das atividades metabólicas e imunológicas normais, enquanto as funções prestadas pelo microbioma secundário, também extremamente importantes, poderiam ser realizadas por uma variação menor na composição genética em cada local. A diversidade taxonômica de uma população é grande, mas as propriedades funcionais encontram-se extremamente conservadas (redundância funcional) em microbiomas associados à saúde. Isso não surpreende se considerarmos que o microbioma é uma comunidade que existe em uma relação simbiótica com o seu hospedeiro, fornecendo funções metabólicas necessárias, estimulando a imunidade inata e prevenindo a colonização com organismos patogênicos indesejáveis. Assim, as variações interpessoais do microbioma podem existir em indivíduos saudáveis, desde que as funções necessárias estejam preservadas.

Evolução do Microbioma e da Flora Normal

A flora normal de um local específico do corpo consiste em uma comunidade única, representada pelas microbiotas central e secundária, que evoluíram pela relação simbiótica com o hospedeiro e pela relação competitiva com outras espécies. O hospedeiro fornece um local para colonizar, nutrientes e alguma proteção contra espécies indesejáveis (resposta imune inata). Os micróbios fornecem funções metabólicas necessárias, estimulam a imunidade inata e reguladora e previnem a colonização por organismos patogênicos indesejáveis (Fig. 2-2). A capacidade de tolerar a quantidade de oxigênio ou a falta dele (estado redox), o pH e a concentração de sal, bem como a capacidade de captar minerais essenciais e de adquirir e metabolizar os nutrientes disponíveis determinam o número e a natureza das espécies que povoam um lugar específico do corpo. As bactérias anaeróbias ou anaeróbias facultativas colonizam a maioria dos locais do corpo, devido à falta de oxigênio em locais como a boca, o intestino e o trato geniturinário.

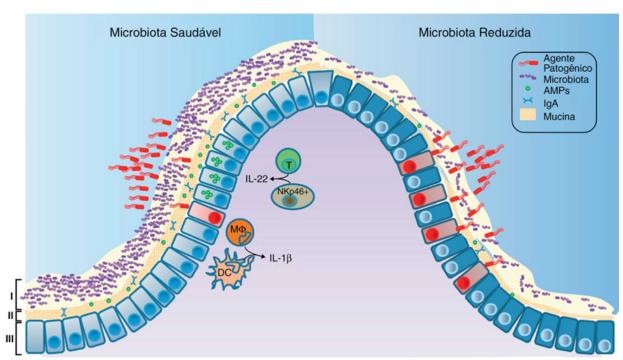


FIGURA 2-2 Proteção da microbiota intestinal contra infecções entéricas. (I) A saturação dos locais de colonização e o consumo de nutrientes limitam o acesso dos agentes patogênicos aos tecidos do hospedeiro; (II) a microbiota induz a imunidade inata pela estimulação de produção de mucina, imunoglobulina (*Ig*) A e peptídeos antimicrobianos (*AMPs*); e (III) a microbiota estimula a expressão da interleucina (*IL*)-22, o que aumenta a resistência epitelial e a produção de IL-1β, promovendo o recrutamento de células inflamatórias (De Khosravi A, Mazmanian S: Disruption of the gut microbiome as a risk factor for microbial infections, *Curr Opin Microbiol* 16:221–227, 2013.)

A composição da microbiota é influenciada pela higiene pessoal (p.ex., o uso de sabão, desodorantes, enxaguatório bucal, exfoliações da pele, enemas, duchas vaginais), dieta, fonte de água, fármacos (sobretudo antibióticos) e exposição a toxinas ambientais. Beber água de poço em oposição à água contendo cloro ou uma dieta composta por mais ou menos fibras, açúcar ou gorduras pode selecionar diferentes bactérias intestinais, com base em sua capacidade de utilizar os minerais

essenciais (p.ex., ferro) e nutrientes. A alteração do ambiente com alimentos ou fármacos também pode alterar a microbiota (Fig. 2-3). Essas modificações podem ser aceitáveis se o microbioma central e as suas propriedades funcionais críticas forem mantidos, mas podem resultar em doença se tais funções forem perturbadas. Em termos históricos, a maior preocupação com a utilização de antibióticos de largo espectro foi a seleção de bactérias resistentes; no entanto, deveria constituir uma preocupação maior a perturbação do microbioma e a perda de suas funções essenciais.

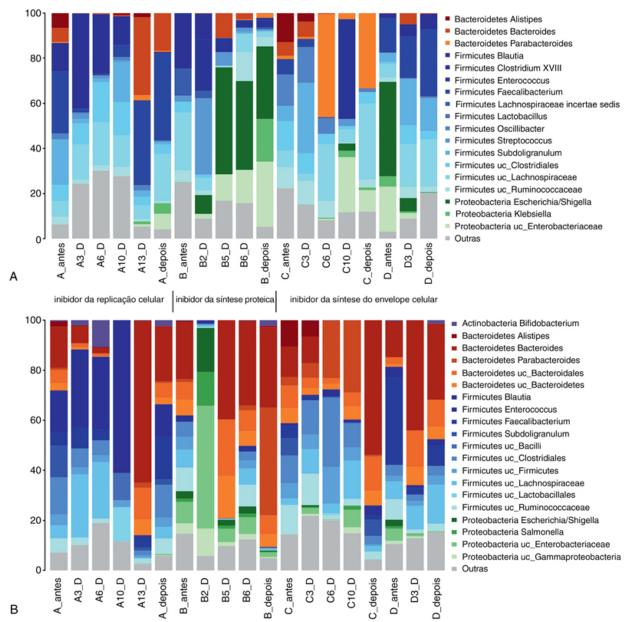


FIGURA 2-3 Efeito dos antibióticos sobre a microbiota intestinal. Amostras fecais foram coletadas de quatro pacientes tratados com antibióticos: paciente A, moxifloxacina; paciente B, penicilina + clindamicina; paciente C, cefazolina seguida de ampicilina/sulbactam; paciente D, amoxicilina. Amostras fecais coletadas antes, durante (p.ex., 3_D significa dia 3 da terapêutica) e após terapêutica foram usadas para avaliar a microbiota total. As alterações são detectadas tanto durante a terapêutica, quanto após a descontinuação da terapêutica. A, Microbiota total (gene RNAr 16S). B, Microbiota metabolicamente ativa (transcrições de RNAr 16S). (De Perez-Cobas AE, Artacho A, Knecht H, et al: Differential effects of antibiotic therapy on the structure and function of human gut microbiota, PLoS One 8:e80201, 2013.)

Das cerca de 200 espécies únicas de bactérias que colonizam o tubo digestório, a maioria é membro das Actinobactérias Bifidobacterium), Bacteroidetes (p.ex., *Bacteroides*) (p.ex., Eubacterium, Ruminococcus, Faecalibacterium, Blautia). Curiosamente, a importância de muitas dessas bactérias não foi considerada antes do sequenciamento genético ter sido usado para identificar e quantificar a microbiota do tubo digestório. No cólon, para estabelecer o seu nicho, algumas bactérias empreendem uma guerra interespécies com bacteriocinas (p.ex., colicinas produzidas por Escherichia coli), outras proteínas antibacterianas e metabólitos que impedem o crescimento de Essas moléculas beneficiam o hospedeiro pela eliminação de bactérias incluindo Salmonella, Shigella, Clostridium difficile, Bacillus cereus e outros agentes patogênicos. A bactéria também deve ter resistência aos peptídeos antimicrobianos e à imunoglobulina (Ig) A, produzidos pelo hospedeiro e liberados no intestino.

O metabolismo dos nutrientes tem grande importância na relação simbiótica entre o hospedeiro humano e os micróbios. As bactérias no tubo digestório humano são responsáveis pela metabolização de carboidratos complexos (incluindo a

celulose), com o intuito de fornecer os ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, propionato e butirato, que podem ser facilmente transportados e utilizados pelas células do nosso corpo. Esses ácidos também limitam o crescimento de bactérias indesejáveis. Outras bactérias nutrem-se dos carboidratos, das mucinas que revestem o epitélio ou dos óleos liberados pelo suor. As bactérias Bacteroidetes e Firmicutes são mais eficientes que as outras na degradação dos carboidratos complexos, incluindo os compostos da parede celular vegetal (celulose, pectina, xilano), bem como na degradação dos carboidratos derivados do hospedeiro, incluindo aqueles associados às mucinas ou aos sulfatos de condroitina da camada mucosa protetora do intestino. Aumentos na proporção dessas bactérias no microbioma intestinal podem conduzir a uma maior eficiência no armazenamento dos subprodutos metabólicos. Isso pode ser benéfico para populações subnutridas ou para pacientes com doenças debilitantes, como neoplasia, ou em contrapartida, levar à obesidade em populações bem nutridas.

Papel do Microbioma na Doença

Se o microbioma normal caracteriza estado de saúde, alterações no microbioma podem significar doença, uma relação que só estamos começando a entender. Em 1884, Robert Koch e Friedrich Loeffler definiram a relação entre um organismo e a infecção. Os **postulados de Koch** basearam-se no conceito de "um organismo, uma doença". A pesquisa do microbioma introduziu um novo conceito de doença, causada pelo desequilíbrio em uma comunidade de organismos, no lugar de uma única espécie de bactérias, com influência estendida para além das tradicionais doenças "infecciosas", de modo a incluir desordens imunológicas e metabólicas, como a doença inflamatória intestinal, obesidade, diabetes tipo 2 e a doença celíaca. Temos agora, à nossa frente, uma nova era de definição de doenças infecciosas.

A perturbação da microflora normal (normalmente referida como **disbiose**) pode levar a um estado de doença pela eliminação de organismos necessários ou por permitir o crescimento de bactérias inapropriadas. Por exemplo, após a exposição a antibióticos e à supressão da flora normal do intestino, *C. difficile* é capaz de se proliferar e expressar enterotoxinas, conduzindo à inflamação do cólon (**colite associada a antibióticos**). Outra doença do cólon, a **colite ulcerativa**, está associada a um aumento do nível de bactérias produtoras de sulfatases que degradam a mucina, levando à degradação do revestimento mucoso protetor da parede do intestino e à estimulação de resposta imunes inflamatória. Os indivíduos com uma microbiota intestinal que é mais eficiente em degradar carboidratos complexos incorporam e não rejeitam esses nutrientes e, portanto, são susceptíveis à **obesidade** e têm uma predisposição para doenças metabólicas, como a **diabetes tipo 2**. Nem todos os pacientes predispostos geneticamente para a **doença celíaca**, uma patologia entérica imunomediada, desencadeada pela exposição às proteínas do glúten, são sintomáticos. A microbiota intestinal da maioria dos indivíduos é composta por bactérias capazes de digerir o glúten, o que pode ser suficiente para proteger esses indivíduos geneticamente predispostos. Todavia, na ausência dessas bactérias, pode ocorrer a doença. As mudanças no microbioma da pele estão associadas à progressão para **infecções de feridas crônicas** e exacerbações episódicas de **dermatite atópica**. No microbioma vaginal, a alteração dos relativamente poucos organismos predominantes para uma população mista heterogênea está associada à progressão para **vaginite**.

Diagnóstico e Terapêutica

Uma compreensão da influência/do envolvimento da disbiose na patologia da doença pode desencadear tanto o desenvolvimento de testes de diagnóstico avançados como otimizar a intervenção terapêutica. Assim como a presença de *Salmonella* ou *Shigella* significa doença, as mudanças na diversidade e na composição da microflora fecal também podem indicar a suscetibilidade ou o aparecimento da doença. O exemplo mais óbvio é doença por *C. difficile* — a manifestação clínica da doença é precedida por uma depleção da flora normal, devido ao uso de antibióticos. Curiosamente, os pacientes com infecções crônicas recorrentes por *C. difficile* são tratados com sucesso pelo repovoamento intestinal com transplantes de fezes de um cônjuge saudável ou parente próximo, ou com amostras de fezes criadas artificialmente e constituídas por uma mistura complexa de organismos fecais aeróbios e anaeróbios.

Alterações mais sutis no microbioma intestinal podem predizer o desenvolvimento de doenças tais como: a **enterocolite necrosante** (**NEC**), a doença inflamatória intestinal e uma tendência para a obesidade. A NEC é uma doença intestinal devastadora que atinge os bebês prematuros. Amostras de fezes coletadas prospectivamente de recém-nascidos prematuros com idade inferior a 29 semanas de idade gestacional demonstraram uma disbiose distinta antes do desenvolvimento da NEC. As crianças com a doença de início precoce apresentaram um domínio de Firmicutes (predominantemente *Staphylococcus*), ao passo que as crianças com NEC de início tardio demonstraram predominância de Enterobacteriaceae.

Os efeitos das alterações do microbioma também foram descritos para a patogênese da doença inflamatória intestinal e do câncer colorretal. A proliferação de bactérias, tais como *Akkermansia muciniphila*, as quais produzem sulfatases que degradam a mucina, é responsável pela degradação do revestimento da parede intestinal. Além disso, um aumento no número de membros da família anaeróbia Prevotellaceae leva à suprarregulação da inflamação mediada por quimiocina. Os *Bacteroides fragilis* enterotoxigênicos também podem induzir respostas inflamatórias mediadas por células T auxiliares, que estão associadas a colite e são precursoras de hiperplasia colênica e tumores colorretais. Por fim, *Methanobrevibacter smithii*, um membro menos importante do microbioma intestinal, melhora a digestão dos glicanos provenientes da dieta pelos *Bacteroides thetaiotaomicron* e por outras bactérias do microbioma intestinal central, levando à deposição de gordura.

Probióticos

Os probióticos são misturas de bactérias ou leveduras que, após a sua ingestão, colonizam e proliferam o intestino, ainda que temporariamente. Os consumidores de probióticos acreditam que esses agentes agem por meio do reequilíbrio do microbioma e de suas funções, como a melhora da digestão dos alimentos e a modulação da resposta imune inata e adaptativa do indivíduo. As razões mais frequentes pelas quais as pessoas usam probióticos de venda livre são a promoção e manutenção da função intestinal regular e a melhoria da tolerância à lactose. Os probióticos são, em geral, bactérias Grampositivas (p.ex., *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*) e leveduras (p.ex., *Saccharomyces*). Muitos desses microrganismos são encontrados em cápsulas ingeríveis e como suplementos alimentares (p.ex., iogurte, quefir). Os probióticos têm sido utilizados para tratar a diarreia associada ao *C. difficile* e a doença inflamatória intestinal, para fornecer proteção contra as infecções por *Salmonella* e *Helicobacter pylori*, como terapêutica para a dermatite atópica na criança e para doenças autoimunes, e ainda para a redução da cárie dentária, embora o valor dos probióticos para muitas dessas condições não esteja ainda comprovado. Mesmo sendo suplementos alimentares seguros, nem todos os probióticos são eficazes e para todas as pessoas. As espécies, a mistura delas, a dose e a viabilidade dos organismos probióticos em uma dada formulação probiótica influenciam a sua potência, eficácia e potencial terapêutico. O que é certo é que, de modo similar ao uso atual de complexas misturas artificiais de organismos para tratar a doença recorrente por *C. difficile*, "probióticos inteligentes" cuidadosamente desenhados têm a probabilidade de ser um complemento importante para a terapêutica médica no futuro.

Perspectiva

Em um futuro próximo, com os procedimentos de sequenciamento de DNA mais rápidos e acessíveis financeiramente, a análise do microbioma de um indivíduo poderá tornar-se um teste diagnóstico de rotina para prever e tratar uma ampla gama de doenças. No entanto, uma série de questões continua sem resolução, incluindo as seguintes: Poderemos prever uma doença em um indivíduo, monitorando mudanças no seu microbioma? Quais são as alterações mais importantes: a função taxonômica ou a genética? Conseguiremos prevenir ou tratar a doença com a reposição de um microbioma saudável? Será que isso poderá ser feito pela prescrição de reposição de micróbios específicos (p.ex., transplante fecal) ou por uma mistura universal (probiótico)? O uso de suplementos metabólicos (prebióticos) poderá promover uma microbiota saudável? E o uso de antibióticos será substituído por terapêuticas com base no uso de um "microbioma inteligente"? Exemplos de outras questões incluem: Qual é o papel do genoma do hospedeiro, dos fatores ambientais e das nossas práticas de higiene na modelação do microbioma?; Quais serão os requisitos da tecnologia para orientar diagnósticos ou terapêuticas? Independentemente das respostas a essas e a outras perguntas, é certo que estamos testemunhando o início de uma nova era da microbiologia, que pode mudar radicalmente nossa abordagem à predição, ao diagnóstico e ao tratamento da doença.

Em um futuro próximo, com os procedimentos de sequenciamento de DNA mais rápidos e acessíveis financeiramente, a análise do microbioma de um indivíduo poderá tornar-se um teste diagnóstico de rotina para prever e tratar uma ampla gama de doenças. No entanto, uma série de questões continua sem resolução, incluindo as seguintes: Poderemos prever uma doença em um indivíduo, monitorando mudanças no seu microbioma? Quais são as alterações mais importantes: a função taxonômica ou a genética? Conseguiremos prevenir ou tratar a doença com a reposição de um microbioma saudável? Será que isso poderá ser feito pela prescrição de reposição de micróbios específicos (p.ex., transplante fecal) ou por uma mistura universal (probiótico)? O uso de suplementos metabólicos (prebióticos) poderá promover uma microbiota saudável? E o uso de antibióticos será substituído por terapêuticas com base no uso de um "microbioma inteligente"? Exemplos de outras questões incluem: Qual é o papel do genoma do hospedeiro, dos fatores ambientais e das nossas práticas de higiene na modelação do microbioma? Quais serão os requisitos da tecnologia para orientar diagnósticos ou terapêuticas? Independentemente das respostas a essas e a outras perguntas, é certo que estamos testemunhando o início de uma nova era da microbiologia, que pode mudar radicalmente nossa abordagem à predição, ao diagnóstico e ao tratamento da doença.

Referências Bibliográficas

Caminero A, Herran AR, Nistal E, et al. Diversity of the cultivable human gut microbiome involved in gluten metabolism: isolation of microorganisms with potential interest for celiac disease. *FEMS Microbiol Ecol* . 2014;88:309–319.

Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. Nat Rev Genet . 2012;13:260-270.

Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, et al. The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation?. *Am J Gastroenterol* . 2012;107:1452–1459.

David LA, Maurice CF, Carmody RN, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* . 2014;505:559–563. Deweerdt S. A complicated relationship status. *Nature* . 2014;508:S62–S63.

Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, et al. The long-term stability of the human gut microbiota. Science . 2013;341:1237439.

Gevers D, Knight R, Petrosino JF, et al. The Human Microbiome Project: a community resource for the healthy human microbiome. *PLoS Biol* . 2012;10:e1001377.

Grice E, Segre J. The skin microbiome. Nat Rev Microbiol . 2011;9:244–253.

Hajishengallis G, Darveau R, Curtis M. The keystone-pathogen hypothesis. Nat Rev Microbiol . 2012;10:717-725.

Human Microbiome Project Consortium A framework for human microbiome research. Nature. 2012;486:215–221.

Human Microbiome Project Consortium Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012;486:207–214.

Khosravi A, Mazmanian S. Disruption of the gut microbiome as a risk factor for microbial infections. *Curr Opin Microbiol*. 2013;16:221–227.

Landers ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature. 2001;409:860-921.

Li K, Bihan M, Methé BA. Analyses of the stability and core taxonomic memberships of the human microbiome. *PLoS ONE*. 2013;8:e63139.

McDermott AJ, Huffnagle GB. The microbiome and regulation of mucosal immunity. Immunology. 2014;142:24–31.

Morgan XC, Segata N, Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. Trends Genet. 2013;29:51–58.

Morrow AL, Lagomarcino AJ, Schibler KR, et al. Early microbial and metabolomics signatures predict later onset of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Microbiome*. 2013;1:13.

Murray P. The Human Microbiome Project: the beginning and future status. Ann Clin Microbiol. 2013;16:162–167.

Perez-Cobas AE, Artacho A, Knecht H, et al. Differential effects of antibiotic therapy on the structure and function of human gut microbiota. *PLoS ONE*. 2013;8:e80201.

Petrof EO, Claud EC, Gloor GB, et al. Microbial ecosystems therapeutics: a new paradigm in medicine?. Benef Microbes. 2013;4:53-65.

Petschow B, Dore J, Hibberd P, et al. Probiotics, prebiotics, and the host microbiome: the science of translation. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1306:1–17.

Srinivasan S, Hoffman NG, Morgan MT, et al. Bacterial communities in women with bacterial vaginosis: high resolution phylogenetic analysis reveal relationships of microbiota to clinical criteria. *PLoS ONE*. 2012;7:e37818.

Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. Science. 2001;291:1304–1351.

CAPÍTULO 3

Esterilização, Desinfecção e Antissepsia

Um aspecto importante do controle de infecções é a compreensão dos princípios de esterilização, desinfecção e antissepsia (Quadro 3-1).



Quadro 3-1 Definições

Antissepsia: Uso de agentes químicos na pele ou em outros tecidos vivos com o objetivo de inibir ou eliminar micróbios; não implica ação esporicida

Desinfecção: Uso de procedimentos físicos ou químicos para destruir a maioria das formas microbianas; os esporos de bactérias e outros organismos relativamente resistentes (p.ex., micobactérias, vírus, fungos) podem permanecer viáveis; os desinfetantes subdividem-se em agentes de nível elevado, médio e baixo

Germicida: Agente químico capaz de eliminar micróbios; inclui virucidas, bactericidas, esporicidas, tuberculicidas e fungicidas

Desinfetante de nível elevado: Um germicida que elimina todos os organismos microbianos patogênicos à exceção de esporos de um grande número de bactérias

Desinfetante de nível intermediário: Um germicida que elimina todos os organismos microbianos patogênicos à exceção de endósporos bacterianos

Desinfetantes de nível baixo: Um germicida que elimina a maioria das bactérias vegetativas e dos vírus com envelope lipídico e de tamanho médio

Esterilização: Uso de procedimentos físicos ou de agentes químicos para destruir todas as formas microbianas, incluindo os esporos bacterianos

Esterilização

A esterilização é a destruição total de todos os micróbios, incluindo as formas mais resistentes, tais como esporos de bactérias, micobactérias, vírus sem envelope (não lipídico) e fungos. Tal pode ser conseguido usando esterilizantes físicos, vapor de gás ou químicos (Tabela 3-1).



Métodos de Esterilização

Método	Concentração ou Nível						
Esterilizantes Físicos							
Vapor sob pressão	121°C ou 132°C durante intervalos de tempo variáveis						
Filtração	Filtros com poros de 0,22 a 0,45 µm; filtros HEPA						
Radiação ultravioleta	Exposição variável à radiação com comprimento de onda de 254 nm						
Radiação ionizante	Exposição variável a microondas ou radiação gama						
Esterilizantes com Vapor de Gás							
Óxido de etileno	450–1.200 mg/L, de 29°C a 65°C, durante 2–5 h						
Vapor de peróxido de hidrogênio	30%, de 55°C a 60°C						
Gás de plasma	Gás de peróxido de hidrogênio altamente ionizado						
Esterilizantes Químicos							
Ácido peracético	0,2%						
Glutaraldeído	2%						

HEPA, filtro de alta eficiência para partículas aéreas.

O vapor saturado sob pressão é um método de esterilização amplamente utilizado, de baixo custo, não tóxico e fiável. Existem três parâmetros indispensáveis: o tempo de exposição ao vapor, a temperatura e a quantidade de umidade. O ciclo de esterilização mais frequentemente utilizado é o uso de vapor saturado aquecido a 121°C durante 15 minutos. A manutenção da temperatura adequada é fundamental, porque uma queda de 1,7°C aumenta o tempo de exposição necessário em 48%. Se não estiver presente qualquer umidade, então a temperatura deverá chegar aos 160°C. A esterilização por calor seco requer tempos de exposição prolongados e provoca danos em diversos instrumentos, não sendo, por isso, recomendada hoje em dia.

O gás **óxido de etileno** é usado para esterilizar objetos sensíveis à temperatura ou à pressão. O tratamento dura, em geral, cerca de 4 horas, e os objetos esterilizados devem ser arejados durante um período adicional de 12 horas para eliminar o gás tóxico antes da sua utilização. Embora o óxido de etileno seja altamente eficiente, regulamentos estritos limitam o seu uso porque ele é inflamável, explosivo e carcinogênico para animais de laboratório. Por essas razões, a esterilização por óxido etileno é evitada se alternativas aceitáveis estiverem disponíveis.

Os vapores de **peróxido de hidrogênio** são esterilizantes eficazes devido à sua natureza oxidante. Este é utilizado na esterilização de instrumentos. Uma variação é a **esterilização por plasma de peróxido de hidrogênio**, em que o peróxido de hidrogênio é vaporizado, e, em seguida, os radicais livres reativos são produzidos quer com energia de frequência de micro-ondas, quer com energia de radiofrequência. Visto que esse método de esterilização é eficiente e não gera subprodutos tóxicos, a esterilização por plasma de peróxido de hidrogênio tem sido utilizada em muitas situações onde haveria indicação para recorrer ao óxido de etileno. No entanto, não pode ser usado com materiais que absorvem o peróxido de hidrogênio ou reagem com ele.

Dois **esterilizantes químicos** também têm sido usados: o **ácido peracético** e o **glutaraldeído**. O ácido peracético, um agente oxidante, tem uma excelente atividade, e os produtos finais (i.e., ácido acético e oxigênio) não são tóxicos. Em contraste, a segurança é uma preocupação com o glutaraldeído, que deve ser manuseado com cuidado.

Desinfecção

Os micróbios também são destruídos por procedimentos de desinfecção, apesar de os organismos mais resistentes poderem sobreviver. Por infelicidade, os termos *desinfecção* e *esterilização* são trocados entre si casualmente, o que pode resultar em confusão. Isso ocorre porque os processos de desinfecção foram classificados como sendo de nível elevado, intermediário e baixo. A desinfecção de nível elevado quase sempre pode aproximar-se da esterilização no que diz respeito à eficácia, mas as formas de esporos podem sobreviver a uma desinfecção de nível intermediário e muitos micróbios podem manter a sua viabilidade quando expostos à desinfecção de nível baixo.

Mesmo a classificação de desinfetantes (Tabela 3-2) pelo seu nível de atividade é enganosa. A eficácia desses procedimentos é influenciada pela natureza do produto a ser desinfetado, número e resistência dos organismos contaminantes, quantidade de matéria orgânica presente (que pode inativar o desinfetante), tipo e concentração do desinfetante, duração e temperatura de exposição.



Métodos de Desinfecção

Método	Concentração (Nível de Atividade)		
Calor			
Calor úmido	75°C a 100°C durante 30 min (elevada)		
Líquido			
Glutaraldeído	2%–3,2% (elevada)		
Peróxido de hidrogênio	3%–25% (elevada)		
Compostos de cloro	100–1.000 ppm de cloro livre (elevada)		
Álcool (etil, isopropil)	70%–95% (intermediária)		
Compostos fenólicos	0,4%–5,0% (intermediária/baixa)		
Compostos iodóforos	30–50 ppm de iodo livre/L (intermediária)		
Compostos de amônio quaternário	0,4%–1,6% (baixa)		

Os desinfetantes de nível elevado são utilizados para objetos envolvidos em procedimentos invasivos que não podem suportar processos de esterilização (p.ex., certos tipos de endoscópios e instrumentos cirúrgicos com plástico ou outros componentes que não podem ser esterilizados em autoclave). A desinfecção destes e de outros artigos é mais eficaz se a limpeza da superfície para remover a matéria orgânica preceder o tratamento de desinfecção. Exemplos de desinfetantes de nível elevado incluem o tratamento com calor úmido e a utilização de líquidos, tais como o glutaraldeído, peróxido de hidrogênio, ácido peracético e compostos de cloro.

Os desinfetantes de nível intermediário (i.e., álcoois, compostos iodóforos, compostos fenólicos) são usados para limpar superfícies ou instrumentos em que a contaminação com esporos de bactérias e outros organismos altamente resistentes é improvável. Esses instrumentos e dispositivos têm sido referidos como semicríticos e incluem endoscópios flexíveis de fibra óptica, laringoscópios, espéculos vaginais, circuitos respiratórios para aparelhos de anestesia e outros objetos.

Os desinfetantes de nível baixo (i.e., compostos de amônio quaternário) são usados para tratar os instrumentos e dispositivos não críticos, tais como as braçadeiras de pressão arterial, eletrodos de eletrocardiograma e estetoscópios. Embora esses objetos entrem em contato com o paciente, eles não penetram superfícies mucosas ou tecidos estéreis.

O nível de desinfetantes utilizados para as superfícies ambientais é determinado pelo risco relativo dessas superfícies em se apresentarem como um reservatório para os organismos patogênicos. Por exemplo, um desinfetante de nível mais elevado deve ser utilizado para limpar a superfície de instrumentos contaminados com sangue em vez de ser usado para limpar as superfícies "sujas", tais como pavimentos, pias e bancadas. São exceções a essa regra situações em que uma superfície específica tiver sido implicada em uma infecção nosocomial, tal como um banheiro contaminado com *Clostridium difficile* (bactéria anaeróbia, formadora de esporos) ou uma pia contaminada com *Pseudomonas aeruginosa*. Nesses casos, deve-se selecionar um desinfetante com atividade adequada contra o agente patogênico implicado.

Antissepsia

Os agentes antissépticos (Tabela 3-3) são usados para reduzir o número de micróbios na superfície da pele. Tais compostos são selecionados pela sua segurança e eficácia. Um resumo das suas propriedades germicidas é apresentado na Tabela 3-4. Os álcoois têm excelente atividade contra todos os grupos de organismos, exceto os esporos, e não são tóxicos apesar de terem tendência para secar a superfície da pele porque removem os lipídios. Eles também não têm atividade residual e são inativados pela matéria orgânica. Assim, a superfície da pele deve ser limpa antes do álcool ser aplicado. Os **iodóforos** são também excelentes agentes antissépticos da pele, contendo uma gama de atividade semelhante à dos álcoois. Eles são ligeiramente mais tóxicos para a pele que o álcool, têm limitada atividade residual e são inativados por matéria orgânica. Os iodóforos e preparações de iodo são frequentemente utilizados com álcoois na desinfecção da superfície da pele. A **clorohexidina** tem ampla atividade antimicrobiana, mesmo eliminando os organismos a uma taxa muito mais lenta que o álcool. A sua atividade persiste, embora os níveis de matéria orgânica e o pH elevado diminuam a sua eficácia. A atividade de **paraclorometaxilenol (PCMX)** está sobretudo limitada a bactérias Gram-positivas. Uma vez que não é tóxico e tem atividade residual, ele tem sido utilizado em produtos para lavar as mãos. O **triclosan** é ativo contra as bactérias, mas não contra muitos outros organismos. É um agente antisséptico comum em sabonetes desodorantes e produtos dentifrícios.



Agentes Antissépticos

Agentes Antissépticos	Concentração
Álcool (etil, isopropil)	70%–90%
Iodóforos	1–2 mg de iodeto livre/L; 1–2% iodo disponível
Cloro-hexidina	0,5%-4,0%
Paraclorometaxilenol	0,50%–3,75%
Triclosan	0,3%-2,0%



Tabela 3-4

Propriedades Germicidas de Agentes Desinfetantes e Antissépticos

Agentes	Bactérias	Micobactérias	Esporos Bacterianos	Fungos	Vírus					
Desinfetantes										
Álcool	+	+	_	+	+/-					
Peróxido de hidrogênio	+	+	+/-	+	+					
Fenólicos	+	+	-	+	+/-					
Cloro	+	+	+/-	+	+					
Iodóforos	+	+/-	-	+	+					
Glutaraldeído	+	+	+	+	+					
Compostos de amônio quaternário	+/-	-	_	+/-	+/-					
Agentes Antissépticos										
Álcool	+	+	-	+	+					
Iodóforos	+	+	-	+	+					
Cloro-hexidina	+	+	-	+	+					
Paraclorometaxilenol	+/-	+/-	-	+	+/-					
Triclosan	+	+/-	-	+/-	+					

Mecanismos de Ação

A seção seguinte analisa brevemente os mecanismos pelos quais os esterilizantes, desinfetantes e antissépticos mais comuns atuam.

Calor Úmido

As tentativas para esterilizar objetos utilizando água fervente são ineficientes, porque apenas se consegue alcançar e manter uma temperatura relativamente baixa (100°C). Com efeito, a formação de esporos pelas bactérias é em geral demonstrável pela ebulição de uma solução de organismos e, em seguida, procedendo à subcultura dessa solução. A fervura de organismos vegetativos elimina-os, mas os esporos permanecem viáveis. Em contraste, o vapor sob pressão em autoclave é uma forma muito eficaz de esterilização; a temperatura mais elevada causa a desnaturação de proteínas microbianas. A taxa de eliminação de organismos durante o processo de autoclavagem é rápida, mas é influenciada pela temperatura e duração da autoclavagem, o tamanho da autoclave, a taxa de fluxo do vapor, a densidade e o tamanho da carga e o posicionamento da carga na câmara. Deve-se ter cuidado para evitar a criação de bolsas de ar, que inibem a penetração do vapor de água na carga. Em geral, a maioria das autoclaves funciona de 121°C a 132°C durante um período igual ou superior a 15 minutos. Incluindo as preparações comerciais de *Bacillus stearothermophilus*, os esporos podem ajudar a monitorizar a eficácia da esterilização. Coloca-se uma ampola desses esporos no centro da carga, remove-se a mesma no final do processo de autoclavagem e procede-se à sua incubação a 37°C. Se o processo de esterilização tiver sido bem-sucedido, os esporos são eliminados e não haverá desenvolvimento de organismos.

_

Óxido de Etileno

O óxido de etileno é um gás incolor (solúvel em água e em solventes orgânicos comuns) que é utilizado para esterilizar objetos sensíveis ao calor. O processo de esterilização é relativamente lento e é influenciado pela concentração do gás, pela umidade relativa e pelo teor de umidade do objeto a ser esterilizado, tempo de exposição e temperatura. O tempo de exposição é reduzido em 50% por cada duplicação da concentração de óxido de etileno. Do mesmo modo, a atividade do óxido de etileno duplica, aproximadamente, por cada aumento de temperatura de 10°C. A esterilização com óxido de etileno atinge a sua eficácia máxima na presença de uma umidade relativa em torno de 30%, estando a sua atividade diminuída a níveis de umidade superiores ou inferiores. Isso é particularmente problemático se os organismos contaminantes estiverem secos sobre uma superfície ou liofilizados. O óxido de etileno exerce a sua atividade esporicida através da alquilação dos grupos terminais hidroxila, carboxila, amina e sulfidrila. Esse processo bloqueia os grupos reativos necessários para muitos processos metabólicos essenciais. Exemplos de outros gases de alquilação forte, usados como esterilizantes, são o formaldeído e a β-propiolactona. Dado que óxido de etileno pode danificar os tecidos viáveis, o gás dever ser dissipado antes que o objeto seja usado. Esse período de arejamento dura geralmente 16 horas ou mais. A eficácia da esterilização é monitorizada pelo teste com esporos de *Bacillus subtilis*.

Aldeídos

Tal como ocorre com o óxido de etileno, os aldeídos exercem os seus efeitos através da alquilação. Os dois aldeídos mais conhecidos são o **formaldeído** e o **glutaraldeído**, sendo que ambos podem ser utilizados como esterilizantes ou desinfetantes de nível elevado. O gás formaldeído pode ser dissolvido em água criando uma solução denominada formalina. Baixas concentrações de formalina são bacteriostáticas (i.e., inibem, mas não matam, os organismos), enquanto concentrações mais altas (p.ex., 20%) podem causar a morte de todos os organismos. A combinação de formaldeído com álcool pode aumentar a atividade microbicida. A exposição da pele ou das membranas mucosas ao formaldeído pode ser tóxica, e os vapores podem ser carcinogênicos. Por esses motivos, na atualidade, o formaldeído é raramente utilizado no contexto de cuidados de saúde. O glutaraldeído é menos tóxico para os tecidos viáveis, mas pode ainda causar queimaduras na pele ou membranas mucosas. O glutaraldeído é mais ativo, mas é menos estável em pH alcalino (ele é "ativado" pelo hidróxido de sódio). Como o glutaraldeído também é inativado por matéria orgânica, os objetos a serem tratados devem receber uma limpeza prévia.

Agentes Oxidantes

Exemplos de agentes oxidantes incluem o ozônio, o ácido peracético e o peróxido de hidrogênio, sendo o último usado com mais frequência. O **peróxido de hidrogênio** elimina eficazmente a maioria das bactérias em uma concentração de 3% a 6% e elimina todos os organismos, incluindo esporos, em concentrações mais elevadas (10% a 25%). A forma oxidante ativa não é o peróxido de hidrogênio, e sim o radical livre hidroxila, formado pela decomposição do primeiro. O peróxido de hidrogênio é usado para desinfetar implantes de plástico, lentes de contato e próteses cirúrgicas.

Halogêneos

Os halogêneos, tais como os compostos contendo iodo ou cloro, são extensivamente usados como desinfetantes. Os **compostos de iodo** são os halogêneos disponíveis mais eficazes para a desinfecção. O iodo é um elemento altamente reativo que precipita proteínas e oxida enzimas essenciais. Possui ação microbicida contra quase todos os organismos, incluindo bactérias formadoras de esporos e micobactérias. Nem a concentração, nem o pH da solução de iodo afeta a atividade microbicida, embora a eficácia dos compostos de iodo aumente em soluções ácidas, uma vez que mais iodo livre é liberado. O iodo funciona mais rapidamente que os outros compostos halogenados ou compostos de amônio quaternário. No entanto, sua atividade pode reduzir-se na presença de alguns compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo o plasma, fezes, líquido ascítico, escarro, urina, tiossulfato de sódio e amoníaco. O iodo elementar pode ser dissolvido em iodeto de potássio aquoso ou álcool, ou pode formar um complexo com um transportador. O último composto é referido como um *iodóforo* (*iodo*, "iodo"; *phor*, "veículo"). A iodopovidona (complexo de iodo com polivinilpirrolidona) é utilizada com mais frequência, é relativamente estável e não tóxica para os tecidos e superfícies de metal, mas é dispendiosa em comparação com outras soluções de iodo.

Os compostos de cloro também são usados extensivamente como desinfetantes. As soluções aquosas de cloro têm uma ação bactericida rápida, apesar de seu mecanismo de ação não estar definido. Podem estar presentes na água as seguintes três formas de cloro: cloro elementar (Cl₂), que é um agente oxidante muito forte; ácido hipocloroso (HOCl); e íons hipoclorito (OCl₂). O cloro também pode se combinar com amoníaco e outros compostos nitrogenados para formar cloraminas ou compostos *N*-cloro. O cloro pode exercer o seu efeito através da oxidação irreversível de grupos sulfidrila (SH) de enzimas essenciais. Acredita-se que os hipocloritos interagem com componentes citoplasmáticos para formar compostos *N*-cloro tóxicos, os quais interferem com o metabolismo celular. A eficácia do cloro é inversamente proporcional ao pH, com maior atividade observada em pH ácido. Isso é consistente com uma maior atividade associada ao ácido hipocloroso que à concentração do íon hipoclorito. A atividade dos compostos de cloro também aumenta com a concentração (p.ex., um aumento de duas vezes na concentração resulta em uma diminuição de 30% no tempo necessário para a eliminação de organismos) e a temperatura (p.ex., existe uma redução de 50% a 65% no tempo de eliminação por

cada aumento de 10°C na temperatura). A presença de material orgânico e os detergentes alcalinos podem reduzir a eficácia dos compostos de cloro. Tais compostos demonstram uma boa atividade germicida, embora os organismos que formam esporos sejam 10 a 1.000 vezes mais resistentes ao cloro que as formas vegetativas das bactérias.

Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos (germicidas) são raramente usados como desinfetantes. Todavia, eles possuem interesse histórico, porque foram utilizados como um padrão de comparação para avaliar a atividade de outros compostos germicidas. A razão da atividade germicida de um composto testado em relação àquela obtida para uma concentração definida de fenol determinava o coeficiente fenólico. Um valor de 1 indicava atividade equivalente, superior a 1 indicava atividade inferior à do fenol, e inferior a 1 indicava atividade superior à do fenol. Esses testes são limitados, pois o fenol não possui atividade esporicida à temperatura ambiente (mas é esporicida a temperaturas próximas de 100°C) e tem fraca atividade contra vírus sem envelope contendo lipídios. Isso é compreensível na medida em que se acredita que o fenol atue por rompimento das membranas contendo lipídios, resultando na perda do conteúdo celular. Os compostos fenólicos são ativos contra as micobactérias em geral resistentes, porque a parede celular desses organismos tem uma concentração de lipídios muito elevada. A exposição dos compostos fenólicos a compostos alcalinos reduz substancialmente a sua atividade, ao passo que a halogenação dos compostos fenólicos aumenta a sua atividade. A introdução de grupos alifáticos ou aromáticos no núcleo de fenóis de halogêneo também aumenta a sua atividade. Bisfenóis são dois compostos fenólicos ligados entre si. A atividade desses compostos também pode ser potencializada por halogenação. Um exemplo de um bisfenol halogenado é o hexaclorofeno, um antisséptico com atividade contra bactérias Gram-positivas.

Compostos de Amônio Quaternário

Os compostos de amônio quaternário são constituídos por quatro grupos orgânicos ligados de forma covalente ao nitrogênio. A atividade germicida de tais compostos catiônicos é determinada pela natureza dos grupos orgânicos, com a sua maior atividade observada com compostos contendo grupos de 8 a 18 carbonos de comprimento. Exemplos de compostos de amônio quaternário incluem o **cloreto de benzalcônio** e o **cloreto de cetilpiridínio**. Estes atuam por desnaturação das membranas celulares para liberar os componentes intracelulares. Os compostos de amônio quaternário são bacteriostáticos em concentrações baixas e bactericidas em concentrações elevadas; no entanto, os organismos, tais como *Pseudomonas, Mycobacterium* e o fungo *Trichophyton* são resistentes a esses compostos. De fato, algumas estirpes de *Pseudomonas* podem crescer em soluções de amônio quaternário. Muitos vírus e todos os esporos bacterianos são também resistentes. Os detergentes iônicos, a matéria orgânica e a diluição neutralizam os compostos de amônio quaternário.

Álcoois

A atividade germicida dos álcoois cresce com o aumento do comprimento da cadeia (máximo de cinco a oito átomos de carbono). Os dois álcoois mais utilizados são o **etanol** e o **isopropanol**. Estes são bactericidas rápidos contra as formas vegetativas de bactérias, micobactérias, alguns fungos e vírus contendo lipídios. Infelizmente, os álcoois não possuem qualquer atividade contra os esporos bacterianos e possuem fraca atividade contra alguns fungos e vírus que não contêm lipídios. A sua atividade é maior na presença de água. Assim, o álcool a 70% é mais ativo que o álcool a 95%. O álcool é um desinfetante comum da superfície da pele e, quando é seguido de um tratamento com um iodóforo, é extremamente eficaz para esse fim. Os álcoois também são usados para desinfetar alguns objetos, tais como termômetros.

Referências Bibliográficas

Block SS. Disinfection, sterilization, and preservation. ed 2 Philadelphia: Lea & Febiger; 1977.

Brody TM, Larner J, Minneman KP. Human pharmacology: molecular to clinical. ed 3 St Louis: Mosby; 1998.

Widmer A, Frei R. Decontamination, disinfection, and sterilization. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10Washington, DC: American Society for Microbiology; 2011.

SEÇÃO 2

Princípios Gerais do Diagnóstico Laboratorial

Capítulo 4: Microscopia e Cultivo in vitro

Capítulo 5: Diagnóstico Molecular Capítulo 6: Diagnóstico Sorológico

CAPÍTULO 4

Microscopia e Cultivo in vitro

Os primórdios da microbiologia foram estabelecidos em 1676, quando Anton van Leeuwenhoek, utilizando um dos seus primeiros microscópios, observou bactérias na água. Quase 200 anos depois, Pasteur foi capaz de cultivar bactérias no laboratório em um meio de cultura constituído de extrato de levedura, açúcar e sais de amônio. Em 1881, Hesse usou ágar da cozinha de sua esposa para solidificar o meio de cultura, o que permitiu o crescimento de colônias bacterianas macroscópicas. Ao longo dos anos, os microbiologistas voltaram para a cozinha a fim de criar centenas de meios de cultura usados rotineiramente em diversos laboratórios de microbiologia clínica. Embora os testes que detectam de maneira rápida antígenos microbianos e ensaios moleculares baseados em ácidos nucleicos tenham substituído a microscopia e os métodos de cultura para a detecção de vários organismos, a capacidade de observar esses microrganismos pela microscopia e fazêlos crescer no laboratório continua sendo um procedimento importante nos laboratórios clínicos. Para muitas doenças, essas técnicas permanecem como métodos definitivos para identificar a causa da infecção. Este capítulo fornecerá uma visão geral das técnicas mais utilizadas em microscopia e cultura; detalhes mais específicos serão apresentados nos capítulos dedicados ao diagnóstico laboratorial nas seções individuais de cada organismo.

Microscopia

Em geral, a microscopia é utilizada em microbiologia para duas funções básicas: a detecção inicial e também a identificação preliminar ou definitiva de microrganismos. O exame microscópico de amostras clínicas é usado para detectar células bacterianas, elementos fúngicos, parasitas (ovos, larvas ou formas adultas), e inclusões virais presentes em células infectadas. Propriedades morfológicas características podem ser utilizadas para a identificação preliminar da maioria das bactérias e para a identificação definitiva de muitos fungos e parasitas. A detecção microscópica de organismos corados com anticorpos marcados com corantes fluorescentes ou outros marcadores tem sido muito útil para a identificação específica de muitos organismos. São utilizados cinco métodos gerais de microscopia (Quadro 4-1).



Quadro 4-1 Métodos Microscópicos

Microscopia de campo claro (luz) Microscopia de campo escuro Microscopia de contraste de fase Microscopia de fluorescência Microscopia eletrônica

Métodos de Microscopia

Microscopia de Campo Claro

Os componentes básicos dos microscópios de campo claro consistem em uma fonte de luz usada para iluminar o material a ser analisado, um condensador utilizado para focar a luz sobre o material e dois sistemas de lentes (**lente objetiva** e **lente ocular**) usados para ampliar a imagem das estruturas visualizadas. Na microscopia de campo claro, a amostra é visualizada por luz transimitida, que atravessa o condensador até o material. A imagem é então ampliada, em primeiro lugar pelas lentes objetivas, e, em seguida, pelas lentes oculares. O aumento total da imagem se constitui na multiplicação das ampliações das lentes objetiva e ocular. É comum o uso de três diferentes lentes objetivas: de baixo poder (ampliação de 10 vezes), que pode ser utilizada para realizar uma triagem no material; de alto poder seca (40 vezes), utilizada para localizar organismos maiores, como parasitas e fungos filamentosos; e a de imersão em óleo (100 vezes), que é utilizada para observar as bactérias, leveduras (fungos unicelulares) e os detalhes morfológicos de células e organismos maiores. As lentes oculares aumentam ainda mais a imagem (em geral, de 10 a 15 vezes).

A limitação da microscopia de campo claro é a resolução da imagem (i.e., a capacidade de diferenciar entre dois objetos distintos). A **capacidade de resolução** de um microscópio é determinada pelo comprimento de onda da luz utilizada para iluminar o objeto e o ângulo de luz que penetra nas lentes objetivas (referida como a **abertura numérica**). A capacidade de resolução é maior quando o óleo é colocado entre a lente objetiva (via de regra, a lente de 100 ×) e o material, pois o óleo reduz a dispersão de luz. Os melhores microscópios de campo claro têm um poder de resolução de aproximadamente 0,2 µm, permitindo que a maioria das bactérias, mas não os vírus, possa ser visualizada. Mesmo que a maioria das bactérias

e dos microrganismos maiores possa ser observada com um microscópio de campo claro, os **índices de refração** dos microrganismos e do fundo são semelhantes. Assim, os organismos devem ser corados para que possam ser observados, ou então um método microscópico alternativo deve ser utilizado.

Microscopia de Campo Escuro

As mesmas lentes objetivas e oculares utilizadas nos microscópios de campo claro são também utilizadas nos microscópios de campo escuro; no entanto, é utilizado um **condensador** especial, que impede a luz transmitida iluminar diretamente o material. Apenas uma luz oblíqua e dispersa atinge o material e passa pelos sistemas de lentes, fazendo com que ele seja iluminado e fique brilhante contra um fundo preto. Esse método tem como vantagem o poder de resolução da microscopia de campo escuro ser significativamente aumentado em comparação ao da microscopia de campo claro (i.e., 0,02 µm *versus* 0,2 µm), fazendo com que seja possível detectar bactérias extremamente delgadas, tais como, *Treponema pallidum* (agente etiológico da sífilis) e *Leptospira* spp. (leptospirose). A desvantagem de tal método é que a luz passa mais em torno do microrganismo do que através dele, dificultando o estudo de suas estruturas internas.

Microscopia de Contraste de Fase

A microscopia de contraste de fase permite que os detalhes internos dos microrganismos possam ser examinados. Nessaforma de microscopia, conforme os feixes paralelos de luz passam através de objetos de diferentes densidades, o comprimento de onda de cada feixe se move para fora da "fase" em relação aos demais feixes de luz (i.e., o feixe que passa através de um material mais denso é mais demorado do que os outros feixes). Através da utilização de **anéis anulares** no condensador e nas lentes objetivas, as diferenças de fase são amplificadas, e a luz em fase aparece mais brilhante que a luz fora de fase. Isso cria uma imagem tridimensional do organismo ou da amostra e permite uma análise mais detalhada das estruturas internas.

Microscopia de Fluorescência

Alguns compostos chamados **fluoróforos** podem absorver luz ultravioleta de baixo comprimento de onda e emitir energia em um comprimento de onda superior visível. Apesar de alguns microrganismos apresentarem fluorescência natural **(autofluorescência)**, a microscopia fluorescente quase sempre envolve a coloração de microrganismos com corantes fluorescentes que, então, são examinados em um microscópio fluorescente especialmente projetado. O microscópio utiliza lâmpada de mercúrio de alta pressão, lâmpada de halogênio ou lâmpada de vapor de xenônio que emitem uma luz de comprimento de onda mais curto que aquele emitido pelos microscópios de campo claro tradicionais. Uma série de filtros é utilizada para bloquear o calor gerado a partir da lâmpada, eliminar a luz infravermelha e selecionar o comprimento de onda adequado para excitar o fluoróforo. A luz emitida a partir do fluoróforo é ampliada através das lentes objetivas e oculares tradicionais. Organismos e amostras corados com fluoróforos aparecem brilhantes e iluminados contra um fundo escuro, embora as cores possam variar de acordo com fluoróforo selecionado. O contraste entre o organismo e a coloração de fundo é grande o suficiente para que a amostra possa ser localizada rapidamente em menor aumento e, em seguida, examinada em maior aumento, uma vez que a fluorescência for detectada.

Microscopia Eletrônica

Ao contrário de outras formas de microscopia, **espirais magnéticas** (em vez de lentes) são usadas em microscópios eletrônicos para direcionar um feixe de elétrons a partir de um filamento de tungstênio através do material em direção à tela. Como uma luz de comprimento de onda muito curto é utilizada, a ampliação e a resolução são drasticamente melhoradas. Partículas virais individuais (ao contrário de corpos/corpúsculos de inclusão virais) só podem ser observadas com um microscópio eletrônico. As amostras são em geral coradas ou revestidas com íons metálicos para criar um contraste. Existem dois tipos de microscópios eletrônicos: os **microscópios eletrônicos de transmissão**, nos quais os elétrons, tais como a luz, passam diretamente através da amostra; e os **microscópios eletrônicos de varredura**, nos quais os elétrons encobrem a superfície do material em um determinado ângulo, produzindo uma imagem tridimensional. Hoje em dia, a microscopia eletrônica é utilizada mais como uma ferramenta de investigação do que como auxiliar de diagnósticos; os ensaios de amplificação de ácidos nucleicos altamente sensíveis e específicos são os testes diagnósticos de primeira linha em uso corrente.

Métodos de Análise

As amostras clínicas ou suspensões de microrganismos podem ser colocadas sobre uma lâmina de vidro e examinadas ao microscópio (i.e., o exame direto a fresco). Embora organismos maiores (p.ex., elementos fúngicos, parasitas) e material celular possam ser vistos utilizando-se esse método, a análise dos detalhes internos, muitas vezes, é difícil. A microscopia de contraste de fase pode resolver alguns desses problemas; alternativamente, a amostra ou o organismo podem ser corados por uma variedade de métodos (Tabela 4-1).



Preparações Microscópicas e Colorações Utilizadas no Laboratório de Microbiologia Clínica

Método de Coloração	Princípios e Aplicações		
Exame Direto			
A fresco	Preparações não coradas são examinadas por microscopia de campo claro, campo escuro e contraste de fase.		
KOH a 10%	KOH é utilizado para dissolver material proteico e facilitar a detecção de elementos fúngicos que não são afetados por soluções alcalinas fortes. Corantes como o lactofenol azul de algodão podem ser adicionados para aumentar o contraste entre os elementos fúngicos e a coloração de fundo.		
Tinta da Índia	Procedimento modificado do método de KOH no qual a tinta é adicionada como material de contraste. Corante primariamente utilizado para detectar <i>Cryptococcus</i> spp. em líquido cefalorraquidiano e outros fluidos corporais. A cápsula polissacarídica de <i>Cryptococcus</i> spp. exclui a tinta, formando um halo transparente ao redor da célula leveduriforme.		
Solução de Lugol e iodo	Iodo é adicionado a preparações a fresco de amostras parasitológicas para aumentar o contraste das estruturas internas. Isso facilita a diferenciação de amebas e leucócitos do hospedeiro.		
Colorações Dife	erenciais		
Coloração de Gram	Coloração mais comumente utilizada no laboratório de microbiologia clínica, constituindo a base para a separação dos dois principais grupos de bactérias (Gram-positivas, Gram-negativas). Após a fixação do material em lâmina de vidro (por aquecimento ou tratamento com álcool), o material é exposto ao cristal violeta, e então a solução de iodo é adicionada para formar um complexo com o corante primário. Durante a descoloração com álcool ou acetona, o complexo é mantido nas bactérias Gram-positivas, porém é perdido nas bactérias Gram-negativas; a contracoloração com a safranina é retida pelos organismos Gram-negativos (por isso, a sua coloração vermelha). O grau com que o organismo retém a coloração depende da sua estrutura, das condições de cultura e da habilidade do microscopista de confeccionar o esfregaço.		
Coloração de hematoxilina férrica	Usada para detecção e identificação de protozoários fecais. Ovos e larvas de helmintos retêm grande quantidade do corante e são mais facilmente identificados do que usando a preparação a fresco.		
Metenamina de prata	De modo geral, é mais utilizada em laboratórios de histologia do que em laboratórios de microbiologia. Utilizada primariamente para a detecção de elementos fúngicos nos tecidos, embora outros organismos (p.ex., bactérias) possam ser detectados. Colorações com prata requerem habilidade, pois a coloração não específica pode resultar em lâminas que não podem ser interpretadas.		
Coloração de azul de toluidina O	Utilizada primariamente para detecção de <i>Pneumocystis</i> em material respiratório. Os cistos coram-se de azulavermelhado a roxo-escuro contra um fundo azul-claro. A coloração de fundo é removida por um reagente de sulfatação. As células de levedura se coram e são difíceis de distinguir das células de <i>Pneumocystis</i> . Trofozoítos não coram. Muitos laboratórios substituíram essa coloração por colorações fluorescentes específicas.		
Coloração tricrômica	Alternativa à coloração de hematoxilina férrica para protozoários. Protozoários apresentam um citoplasma que varia do verde-azulado ao roxo com núcleos vermelhos ou vermelho-arroxeados e corpos (corpúsculos) de inclusão; a coloração de fundo é verde.		
Coloração de Wright-Giemsa	Usada para detectar parasitas no sangue, corpos (corpúsculos) de inclusão virais e clamidiais; <i>Borrelia, Toxoplasma, Pneumocystis</i> e <i>Rickettsia</i> spp. Trata-se de uma coloração policromática que contém uma mistura de azul de metileno, azul B e eosina Y. A coloração de Giemsa combina o azul de metileno e a eosina. Íons eosina são carregados negativamente e coram os componentes básicos das células, do laranja à rosa, ao passo que os demais corantes coram as estruturas ácidas da célula em vários tons, que variam do azul ao roxo. Os trofozoítos de protozoários apresentam um núcleo vermelho e citoplasma azul-acinzentado; leveduras intracelulares e corpúsculos de inclusão geralmente são corados em azul; riquétsias, clamídias e <i>Pneumocystis</i> spp. coram em roxo.		
Colorações Acio	lorresistentes		
Coloração de Ziehl-Neelsen	Usada para corar micobactérias e outros organismos acidorresistentes. Os organismos são corados com carbolfucsina básica e resistem à descoloração com soluções acidoalcalinas. O fundo é corado com azul de metileno. Os organismos aparecem em vermelho contra um fundo azul-claro. A absorção de carbolfucsina requer aquecimento do material (coloração acidorresistente a quente).		
Coloração de Kinyoun	Coloração acidorresistente a frio (não requer aquecimento). Mesmo princípio da coloração de Ziehl-Neelsen.		
Auramina- rodamina	Mesmo princípio das outras colorações acidorresistentes, porém corantes fluorescentes (auramina e rodamina) são utilizados para coloração primária, e o permanganato de potássio (agente oxidante forte) é utilizado para inativar o corante fluorescente que não estiver ligado. Organismos fluorescem verde-amarelados contra um fundo preto.		

Coloração	Princípios e Aplicações
Coloração acidorresistente modificada	Um agente de descoloração fraco é utilizado com qualquer um dos três corantes acidorresistentes listados. Enquanto as micobactérias são fortemente acidorresistentes, outros organismos coram mais fracamente (p.ex., Nocardia, Rhodococcus, Tsukamurella, Gordonia, Cryptosporidium, Isospora, Sarcocystis e Cyclospora). Eles podem ser corados de modo mais eficiente utilizando-se um agente de descoloração mais fraco. Organismos que retêm essa coloração são referidos como parcialmente acidorresistentes.
Colorações Fluc	prescentes
Coloração de laranja de acridina	Usada para a detecção de bactérias e fungos de amostras clínicas. O corante intercala-se nos ácidos nucleicos (nativos e desnaturados). Em pH neutro, as bactérias, os fungos e o material celular coram de laranja-avermelhado. Em pH ácido (4,0), bactérias e fungos permanecem laranja-avermelhados, mas a coloração de fundo do material cora de amarelo-esverdeado.
Coloração de auramina- rodamina	Mesmo princípio das colorações acidorresistentes.
Coloração com calcoflúor branco	Usada para detectar a presença de elementos fúngicos e <i>Pneumocystis</i> spp. O corante se liga à celulose e à quitina da parede celular; o microscopista pode misturar o corante com KOH. (Muitos laboratórios têm substituído as colorações tradicionais com KOH por essa coloração.)
Coloração direta com anticorpo fluorescente	Os anticorpos (monoclonais ou policlonais) são complexados com moléculas fluorescentes. A ligação específica a um organismo é detectada pela presença de fluorescência microbiana. A técnica revelou-se útil para a detecção ou identificação de muitos organismos (p.ex., <i>Streptococcus pyogenes, Bordetella, Francisella, Legionella, Chlamydia, Pneumocystis, Cryptosporidium, Giardia,</i> vírus influenza, vírus herpes simples). A sensibilidade e a especificidade do teste são determinadas pelo número de organismos presentes na amostra testada e pela qualidade dos anticorpos utilizados nos reagentes.

KOH, Hidróxido de potássio.

Exame Direto

Método de

Os métodos de exame direto constituem os tipos mais simples para preparação de amostras para análise microscópica. A amostra pode ser suspensa em água ou soro fisiológico (exame a fresco), misturada a uma substância alcalina para clarificação do material (método do hidróxido de potássio [KOH]), ou misturada a uma combinação de substância alcalina e um corante de contraste (p.ex., lactofenol azul de algodão, iodo). Os corantes coram o material celular de forma inespecífica, aumentando o contraste de fundo e permitindo a análise detalhada das estruturas. Uma variação é o método da tinta da China, no qual a tinta escurece o fundo, em vez da célula. Esse método é usado para detectar as cápsulas que circundam o microrganismo, tais como as leveduras de *Cryptococcus* (o corante não penetra na cápsula, criando um halo claro em torno da célula de levedura) e o *Bacillus anthracis* encapsulado.

Colorações Diferenciais

Uma variedade de colorações diferenciais é utilizada para corar organismos específicos ou componentes de material celular. A coloração de Gram é a coloração mais conhecida e amplamente utilizada, e constitui a base para a classificação fenotípica das bactérias. As leveduras também podem ser coradas com este método (leveduras são Gram-positivas). As colorações de hematoxilina férrica e tricromo são de valor inestimável para identificar os protozoários, e a coloração de Wright-Giemsa é usada para identificar parasitas do sangue e outros organismos específicos. Colorações como metenamina de prata e azul de toluidina O têm sido amplamente substituídas por colorações diferenciais ou fluorescentes mais sensíveis ou tecnicamente mais fáceis de preparar.

Colorações Acidorresistentes

Pelo menos três diferentes colorações acidorresistentes são utilizadas, cada uma explorando o fato de que alguns organismos retêm a coloração primária, mesmo quando expostos a fortes agentes de descoloração, tais como as misturas de ácidos e álcoois. A coloração de **Ziehl-Neelsen** é o método mais antigo, mas requer o aquecimento da amostra durante o processo de coloração. Muitos laboratórios têm substituído esse método pela coloração acidorresistente a frio (método de **Kinyoun**) ou por coloração fluorescente (método da auramina-rodamina). O método fluorescente é a coloração de escolha, porque uma grande área do material pode ser rapidamente analisada, a partir da localização de organismos fluorescentes contra um fundo preto. Alguns organismos são "parcialmente acidorresistentes", mantendo a coloração primária apenas quando são descorados com uma solução fracamente ácida. Tal propriedade é característica de apenas alguns organismos (Tabela 4-1), tornando-se valiosa para a sua identificação preliminar.

Colorações Fluorescentes

A coloração acidorresistente de auramina-rodamina é um exemplo específico de uma coloração fluorescente. Vários outros corantes fluorescentes também têm sido utilizados para corar materiais. Por exemplo, **o corante laranja de acridina** pode ser utilizado para corar bactérias e fungos, e o **branco de calcoflúor** cora a quitina da parede celular fúngica.

Ainda que o corante laranja de acridina seja mais limitado em suas aplicações, o branco de calcoflúor substituiu as colorações à base de hidróxido de potássio. Outro procedimento é a análise de amostras com anticorpos específicos marcados com corantes fluorescentes (coloração com anticorpo fluorescente). A presença de organismos fluorescentes é um método rápido, tanto para a detecção quanto para a identificação dos organismos.

Cultura in vitro

O sucesso dos métodos de cultura é definido pela biologia do organismo, pelo local da infecção, pela resposta imune do paciente à infecção e pela qualidade do meio de cultura. A bactéria Legionella é um importante patógeno respiratório; no entanto, nunca havia sido cultivada em cultura, até que se reconheceu que para o isolamento do organismo era necessário o uso de um meio suplementado com ferro e 1-cisteína. Campylobacter, um importante patógeno entérico, não foi isolado de amostras fecais até que meios altamente seletivos foram incubados a 42°C em uma atmosfera de microaerofilia. Chlamydia, uma importante bactéria responsável por doenças sexualmente transmissíveis, é um patógeno intracelular obrigatório que só pode ser cultivado em células vivas (cultura de células). Staphylococcus aureus, responsável pela síndrome do choque tóxico estafilocócico, causa a doença devido à liberação de uma toxina no sistema circulatório. A cultura de sangue quase sempre será negativa, porém a cultura do local onde o organismo está crescendo detectará a sua presença. Em muitas infecções (p.ex., gastroenterite, faringite, uretrite), o organismo responsável pela infecção estará presente entre muitos outros organismos que fazem parte da microbiota normal no local da infecção. Muitos meios de cultura têm sido desenvolvidos no intuito de inibir o crescimento da microbiota normal e facilitar a detecção dos organismos clinicamente importantes. A imunidade inata e adaptativa do paciente pode suprimir o patógeno; assim, técnicas de cultura altamente sensíveis são frequentemente necessárias. Do mesmo modo, algumas infecções são caracterizadas pela presença de um número relativamente pequeno de organismos. Por exemplo, a maioria dos pacientes sépticos apresenta menos de um organismo por mililitro de sangue, de modo que a recuperação desses organismos a partir de culturas de sangue tradicionais requer a inoculação de um grande volume de sangue em caldos de enriquecimento. Por fim, a qualidade dos meios deve ser cuidadosamente monitorada, a fim de se verificar que os mesmos estão funcionando de acordo com a

Na atualidade, são poucos os laboratórios que preparam o seu próprio meio. A maioria dos meios é produzida por grandes companhias comerciais experientes na produção desses meios de cultura. Apesar das vantagens óbvias, isso também significa que os meios não são "frescos". Embora quase sempre isso não represente um problema, esse fato pode interferir na recuperação de alguns organismos fastidiosos (p.ex., *Bordetella pertussis*). Assim, os laboratórios que realizam testes sofisticados frequentemente produzem uma quantidade limitada de meios especializados. Formulações desidratadas da maioria dos meios estão disponíveis, e a sua confecção pode ser realizada com mínima dificuldade. Consulte as Referências Bibliográficas para obter informações adicionais sobre a preparação e controle de qualidade dos meios.

Tipos de Meios de Cultura

Os meios de cultura podem ser subdivididos em quatro categorias gerais: (1) meios enriquecidos não seletivos, (2) meios seletivos, (3) meios diferenciais e (4) meios especializados (Tabela 4-2). Alguns exemplos desses meios estão resumidos a seguir.



Tipos de Meios de Cultura

Tipo	Meios (exemplos)	Finalidade	
Não seletivos	Ágar-sangue	Isolamento de bactérias e fungos	
	Ágar-chocolate	Isolamento de bactérias, incluindo Haemophilus e Neisseria gonorrhoeae	
	Ágar-Mueller-Hinton	Meio para teste de suscetibilidade bacteriana	
	Caldo tioglicolato	Caldo enriquecido para bactérias aeróbicas	
	Ágar-Sabouraud dextrose	Recuperação de fungos	
Seletivos, diferenciais	Ágar-MacConkey	Seletivo para bactérias Gram-negativas; diferencial para espécies fermentadoras da lactose	
	Ágar-manitol	Seletivo para estafilococos; diferencial para Staphylococcus aureus	
	Ágar-xilose-lisina desoxicolato	Ágar seletivo e diferencial para Salmonella e Shigella em culturas entério	
	Meio de Lowenstein-Jensen	Seletivo para micobactérias	
	Ágar-Middlebrook	Seletivo para micobactérias	
	CHROMagar	Seletivo e diferencial para bactérias e leveduras selecionadas	
	Ágar inibidor de fungos filamentosos	Seletivo para fungos filamentosos	
Especializados	Ágar-extrato de levedura em carvão tamponado (BCYE)	Recuperação de <i>Legionella</i> e <i>Nocardia</i>	
	Ágar-cistina-telurito	Recuperação de Corynebacterium diphtheriae	
	Caldo Lim	Recuperação de Streptococcus agalactiae	
	Ágar-MacConkey sorbitol	Recuperação de Escherichia coli O157	
	Ágar-Regan-Lowe	Recuperação de Bordetella pertussis	
	Ágar-tiossulfato-citrato-sais biliares-sacarose (TCBS)	Recuperação de espécies de Vibrio	

Meios Enriquecidos não Seletivos

Esses meios são projetados para permitir o crescimento da maioria dos organismos que não necessita de requerimento nutricional adicional. A seguir estão alguns dos meios mais comumente utilizados:

Ágar-sangue. Muitos tipos de meios à base de ágar-sangue são utilizados em laboratórios clínicos. Os meios contêm dois componentes primários — um meio básico (p.ex., soja tríptica, infusão de cérebro e coração, base *Brucella*) e o sangue (p.ex., de ovelha, cavalo ou coelho). Vários outros suplementos também podem ser adicionados para aumentar a gama de organismos capazes de crescer nesse meio.

Ágar-chocolate. Consiste em um ágar-sangue modificado. Quando o sangue ou a hemoglobina são adicionados ao meio básico aquecido, o meio torna-se marrom (daí o seu nome). Esse meio permite o crescimento da maioria das bactérias, incluindo algumas que não são capazes de crescer em ágar-sangue (p.ex., *Haemophilus*, algumas cepas patogênicas de *Neisseria*).

Ágar-Mueller-Hinton. Esse é o meio recomendado para testes de rotina de suscetibilidade bacteriana aos antibióticos. Apresenta uma composição bem definida de extratos de caseína e carne, sais, cátions divalentes e amido solúvel necessário para que haja reprodutibilidade dos resultados.

Caldo tioglicolato. Consiste em uma das variedades de caldos de enriquecimento usada para recuperar pequenas quantidades de bactérias aeróbicas e anaeróbicas. Várias formulações são usadas, mas a maioria inclui caseína digerida, glicose, extrato de levedura, cisteína e tioglicolato de sódio. A suplementação com hemina e vitamina K melhora a recuperação de bactérias anaeróbicas.

Ágar-Sabouraud dextrose. Esse é um meio enriquecido que consiste em caseína digerida e tecido animal suplementado com glicose, que é utilizado para o isolamento de fungos. Uma variedade de formulações foi desenvolvida, mas a maioria dos micologistas utiliza a formulação com uma concentração baixa de glicose e pH neutro. A redução do pH e a adição de antibióticos para inibir bactérias tornam esse meio seletivo para o isolamento fungos.

Meios Seletivos e Diferenciais

Meios seletivos são utilizados para o isolamento de organismos específicos que podem estar presentes junto com outros organismos (p.ex., um patógeno entérico nas fezes). Os meios são suplementados com substâncias que inibem o crescimento de organismos indesejados. Esses meios podem ser diferenciais, pela adição de ingredientes específicos que

permitem a diferenciação de organismos estreitamente relacionados (p.ex., a adição de lactose e um indicador de pH para detectar os organismos fermentadores da lactose). A seguir estão alguns exemplos de meios seletivos e diferenciais:

Ágar-MacConkey. Esse é um ágar seletivo para bactérias Gram-negativas, e exclusivo por causa da diferenciação que promove entre os organismos fermentadores e não fermentadores da lactose. O meio consiste em peptonas digeridas, sais biliares, lactose, vermelho-neutro e cristal violeta. Os sais biliares e o cristal violeta inibem as bactérias Grampositivas. As bactérias que fermentam a lactose produzem ácido, que precipita os sais biliares e produz uma coloração vermelha no indicador de vermelho-neutro.

Ágar-manitol. Este é um meio seletivo utilizado para o isolamento de estafilococos. O meio consiste em caseína digerida e tecido animal, extrato de carne, manitol, sais e vermelho de fenol. Os estafilococos podem crescer na presença de elevadas concentrações de sal, e o *S. aureus* pode fermentar o manitol, produzindo colônias de coloração amarela nesse meio.

Ágar-xilose-lisina desoxicolato (XLD). Consiste em um ágar seletivo utilizado para a detecção de *Salmonella* e *Shigella* em culturas entéricas. É um exemplo de uma estratégia inteligente para detecção de bactérias importantes em uma mistura complexa de bactérias insignificantes. O meio consiste em extrato de levedura com xilose, lisina, lactose, sacarose, desoxicolato de sódio, tiossulfato de sódio, citrato férrico de amônio e vermelho de fenol. O desoxicolato de sódio inibe o crescimento da maioria das bactérias não patogênicas. Aquelas que crescem e fermentam a lactose, a sacarose ou a xilose produzem colônias amarelas. *Shigella* não fermenta esses carboidratos, por isso forma colônias vermelhas. *Salmonella* fermenta xilose, mas também decarboxila a lisina, produzindo o produto alcalino diamino, a cadaverina. Esta última neutraliza os produtos da fermentação ácida, fazendo com que as colônias apareçam vermelhas. Visto que a maioria das *Salmonella* produz sulfeto de hidrogênio a partir de tiossulfato de sódio, as colônias adquirem coloração preta na presença de citrato férrico de amônio, diferenciando *Salmonella* de *Shigella*.

Meio de Lowenstein-Jensen (LJ). Esse meio, utilizado para o isolamento de micobactérias, contém glicerol, farinha de batata, sais e ovos inteiros (usados para coagular e solidificar o meio). Verde-malaquita é adicionado para inibir as bactérias Gram-positivas.

Ágar-Middlebrook. Esse meio também é utilizado para o isolamento de micobactérias. Ele contém os nutrientes necessários para o crescimento de micobactérias (i.e., sais, vitaminas, ácido oleico, albumina, catalase, glicerol, glucose) e verde-malaquita para a inibição de bactérias Gram-positivas. Em contraste com o meio de LJ, é solidificado com ágar.

CHROMagar. Esses ágares diferenciais seletivos são usados para o isolamento e identificação de uma variedade de bactérias (p.ex., *Staphylococcus aureus*, bactérias entéricas) e leveduras. Um exemplo de concepção desses meios é o desenvolvido para espécies de *Candida*. Esse meio possui cloranfenicol, para inibir as bactérias, e uma mistura de substratos cromogênicos. As diversas espécies de *Candida* possuem enzimas que podem utilizar um ou mais dos substratos, liberando compostos corados que produzem colônias coloridas. Assim, *Candida albicans* resulta em colônias verdes, *Candida tropicalis* em colônias roxas e *Candida krusei* em colônias rosa.

Ágar inibidor de fungos filamentosos. Tal meio consiste em uma formulação enriquecida e seletiva, utilizada para o isolamento de fungos patogênicos que não os dermatófitos. O cloranfenicol é adicionado para inibir o crescimento de bactérias contaminantes.

Meios Especializados

Uma grande variedade de meios especializados foi criada para a detecção de organismos específicos que podem ser fastidiosos ou tipicamente presentes em grandes misturas de organismos. Os meios mais comumente utilizados são descritos nos capítulos específicos para cada organismo neste livro-texto.

Cultura Celular

Algumas bactérias e todos os vírus são **organismos intracelulares estritos**, isto é, apenas podem crescer dentro de células vivas. Em 1949, John Franklin Enders descreveu uma técnica para cultivar células de mamíferos para o isolamento do vírus da poliomielite. Essa técnica foi expandida para o crescimento da maioria dos organismos intracelulares estritos. As culturas de células podem ser tanto células que crescem e se dividem em uma superfície (i.e., **em monocamada**) quanto células que crescem suspensas em um caldo. Algumas culturas celulares são bem estabelecidas e podem ser mantidas indefinidamente. Essas culturas estão, em geral, disponíveis comercialmente. Outras culturas devem ser preparadas imediatamente antes de serem infectadas com a bactéria ou o vírus, e não podem ser mantidas no laboratório por mais que alguns ciclos de divisão **(culturas de células primárias)**. A entrada dos microrganismos nas células é frequentemente regulada pela presença de receptores específicos; assim, a capacidade diferencial de infectar linhagens celulares específicas pode ser utilizada para predizer a identidade de bactérias ou vírus. Informações adicionais sobre a utilização de culturas celulares estão descritas nos capítulos seguintes.

Referências Bibliográficas

Chapin K. Principles of stains and media. In: Murray P, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 9 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2007.

Murray P, Shea Y. *ASM pocket guide to clinical microbiology*. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2004. Snyder J, Atlas R. *Handbook of media for clinical microbiology*. ed 2 Boca Raton, Fla: CRC Press; 2006.

Wiedbrauk D. Microscopy. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology; 2011.

Zimbro M, Power D. Difco and BBL manual: manual of microbiological culture media. Sparks, Md: Becton Dickinson and Company; 2003.

Diagnóstico Molecular

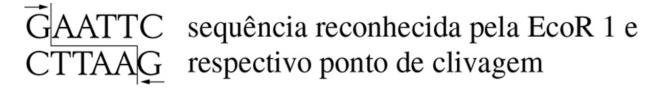
Como as evidências deixadas na cena de um crime, DNA (ácido desoxirribonucleico), RNA (ácido ribonucleico) ou proteínas de um agente infeccioso presentes em uma amostra clínica podem ser utilizados para ajudar na identificação do agente. Em muitos casos, o agente pode ser detectado e identificado dessa forma, ainda que não possa ser isolado ou detectado por métodos imunológicos. Novas técnicas e adaptações de técnicas mais antigas estão sendo desenvolvidas para a análise de agentes infecciosos.

As vantagens das técnicas moleculares incluem sensibilidade, especificidade e segurança. Do ponto de vista da segurança, essas técnicas não necessitam do isolamento do agente infeccioso e podem ser realizadas em amostras quimicamente fixadas (inativadas) ou em extratos. Devido à sensibilidade dessas técnicas, amostras de DNA ou RNA microbiano muito diluídas podem ser detectadas em um tecido, mesmo que o agente não esteja se replicando ou produzindo outra evidência de infecção. Essas técnicas podem distinguir cepas relacionadas com base nas diferenças em seus genótipos (i.e., mutantes). Isso é especialmente útil para distinção de cepas resistentes aos fármacos antivirais, que podem divergir em apenas um único nucleotídeo.

Detecção do Material Genético Microbiano

Análise do DNA por Eletroforese e Polimorfismo dos Tamanhos dos Fragmentos de Restrição

A estrutura do genoma e a sequência genética são as características principais para distinção da família, do tipo e da cepa do microrganismo. Cepas específicas de microrganismos podem ser distinguidas com base no seu DNA ou RNA, ou pelos fragmentos de DNA produzidos após a clivagem do DNA por endonucleases de restrição específicas (enzimas de restrição), ou seletivamente amplificadas (ver adiante). Enzimas de restrição reconhecem sequências específicas do DNA que possuem uma estrutura palindrômica, como no exemplo a seguir:



Os sítios de DNA reconhecidos por diferentes endonucleases de restrição diferem em sequência, tamanho e frequência. Como resultado, diferentes endonucleases de restrição clivam o DNA de uma amostra em lugares diferentes, resultando em fragmentos de tamanhos diferentes. A clivagem de amostras diferentes de DNA com uma endonuclease de restrição pode também gerar fragmentos de diversos tamanhos. As diferenças de tamanho dos fragmentos de DNA entre cepas diferentes de um organismo específico, produzido pela clivagem com uma ou mais endonucleases de restrição, são denominadas polimorfismo no tamanho de fragmentos de restrição (RFLP, do inglês, restriction fragment length polymorphism).

Fragmentos de DNA ou RNA com tamanhos ou estruturas diferentes podem ser distinguidos pela respectiva mobilidade eletroforética em um gel de agarose ou poliacrilamida. Formas diferentes da mesma sequência de DNA e moléculas de DNA com tamanhos diferentes se movem pela matriz gelatinosa do gel de agarose, em velocidades diferentes, permitindo as respectivas separações. O DNA pode ser visualizado por coloração com brometo de etídio. Os fragmentos menores (< 20.000 pares de bases), como aqueles de plasmídeos bacterianos ou vírus, podem ser separados e distinguidos por métodos de eletroforese convencionais. Os fragmentos maiores, como aqueles do DNA total bacteriano, podem ser separados pelo uso de uma técnica especial de eletroforese denominada *eletroforese em gel de campo pulsado*.

A técnica de RFLP é útil, por exemplo, para distinção de cepas diferentes do vírus herpes simples (HSV). A comparação dos padrões de clivagem com endonuclease de restrição do DNA de diferentes isolados pode identificar um padrão de transmissão do vírus de pessoa para pessoa ou distinguir HSV-1 de HSV-2. A técnica de RFLP foi também utilizada para demonstrar a disseminação de uma cepa de *Streptococcus* causando fascite necrosante de um paciente para outros pacientes, para um técnico do setor de emergência médica e para os médicos do mesmo departamento (Fig. 5-1). Com frequência, a comparação do RNA ribossomal 16S é utilizada para identificação de bactérias diferentes.

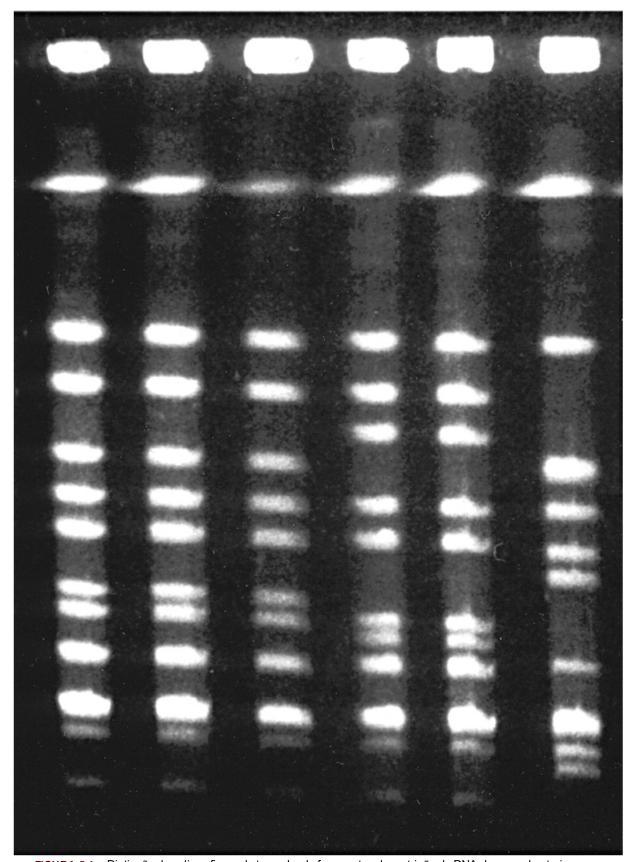
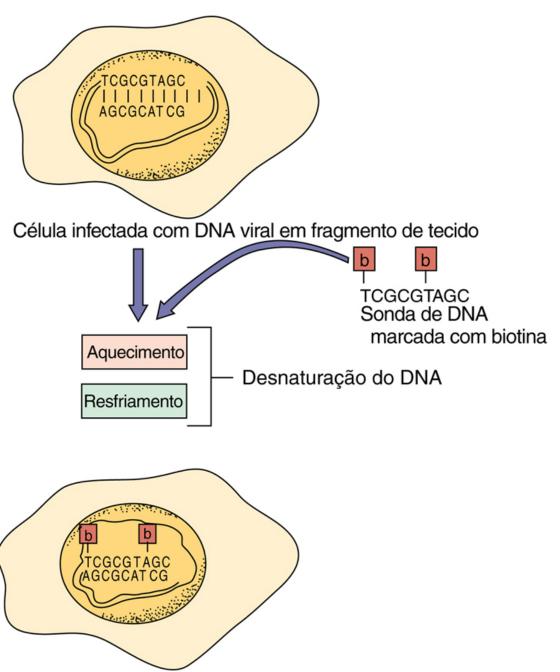


FIGURA 5-1 Distinção do polimorfismo do tamanho de fragmentos de restrição de DNA de cepas bacterianas separadas em gel de agarose por eletroforese de campo pulsado. Colunas 1 a 3 mostram o perfil do DNA de bactérias isoladas de dois membros de uma família com fascite necrosante e do respectivo médico (faringite), digeridos pela endonuclease de restrição *Sma* I. Colunas 4 a 6 são cepas de *Streptococcus pyogenes* não relacionadas. (Cortesia de Dr. Joe DiPersio, Akron, Ohio.)

Sondas de DNA podem ser utilizadas de forma similar aos anticorpos, como ferramentas sensíveis e específicas para detectar, localizar e quantificar sequências específicas de ácido nucleico em espécimes clínicos (Fig. 5-2). Devido à especificidade e à sensibilidade das técnicas que utilizam sondas de DNA, espécies ou cepas individuais de um agente infeccioso podem ser detectadas, mesmo se não estiverem crescendo ou replicando-se.



Avidina marcada com peroxidase de rábano silvestre

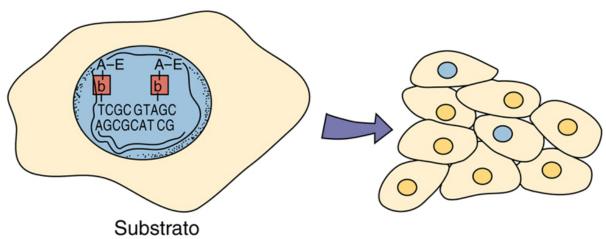


FIGURA 5-2 Análise de células infectadas com vírus por sondas de DNA. Essas células podem ser localizadas em cortes histológicos utilizando-se pequenas sondas de DNA com somente 9 nucleotídeos ou plasmídeos bacterianos contendo o genoma viral. Uma sonda de DNA marcada é adicionada à amostra. Nesse caso, a sonda de DNA possui timidina marcada com biotina modificada, mas agentes radioativos podem também ser

utilizados. A amostra é aquecida para desnaturar o DNA e resfriada para permitir a hibridização da sonda na sequência complementar. Avidina marcada com peroxidase de rábano silvestre é adicionada para se ligar à biotina da sonda. O substrato apropriado é adicionado para corar o núcleo da célula infectada pelo vírus. *A*, Adenina; *b*, biotina; *C*, citosina; *G*, guanina; *T*, timina.

Sondas de DNA são quimicamente sintetizadas ou obtidas pela clonagem específica de fragmentos genômicos ou de um genoma viral integral em vetores bacterianos (plasmídeos, cosmídeos). Para os vírus com genoma de RNA, as cópias de DNA são produzidas utilizando-se a transcriptase reversa de retrovírus, e essas cópias são então clonadas nos vetores. Após tratamento químico ou por calor, as fitas de DNA na amostra são desnaturadas (separadas), a sonda de DNA é adicionada, ocorrendo a hibridização (ligação) com a sequência idêntica ou quase idêntica na amostra. A estringência (requerimento para um pareamento de sequência exato) da interação pode ser variada, de forma que sequências relacionadas possam ser detectadas ou diferentes cepas (mutantes) possam ser distinguidas. As sondas de DNA são marcadas com nucleotídeos radioativos ou quimicamente modificados (p.ex., uridina biotinilada) para que assim possam ser detectadas e quantificadas. O uso de uma sonda de DNA marcada com biotina permite a utilização da avidina ou estreptavidina (proteína que se liga fortemente à biotina) marcadas com um composto fluorescente ou por uma enzima, permitindo a detecção de ácidos nucleicos virais em uma célula de forma similar à localização de um antígeno por imunofluorescência indireta ou ensaio imunoenzimático.

As sondas de DNA podem detectar sequências genéticas específicas em amostras de biópsia de tecidos fixados e permeabilizados, por meio da técnica de **hibridização** *in situ*. Quando a detecção de fluorescência é utilizada, essa técnica é denominada **hibridização** *in situ* fluorescente (FISH, do inglês, *fluorescent in situ hybridization*). A localização de células infectadas pelo citomegalovírus (CMV) ou (Fig. 5-3) papilomavírus por meio da hibridização *in situ* é preferível aos métodos imunológicos, sendo esta a única forma comercialmente disponível para localização do papilomavírus. Existem hoje em dia diversas sondas microbianas e *kits* comercialmente disponíveis utilizados para detecção de vírus, bactérias e outros micróbios.

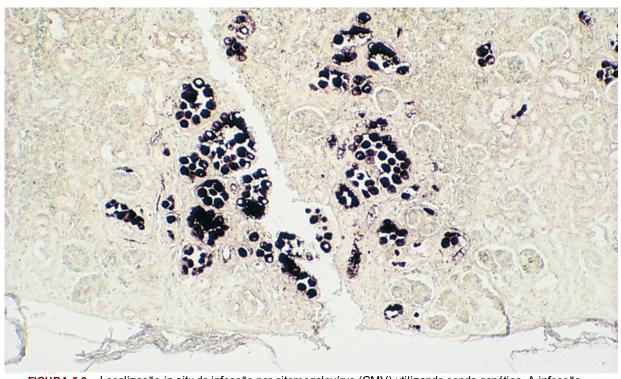
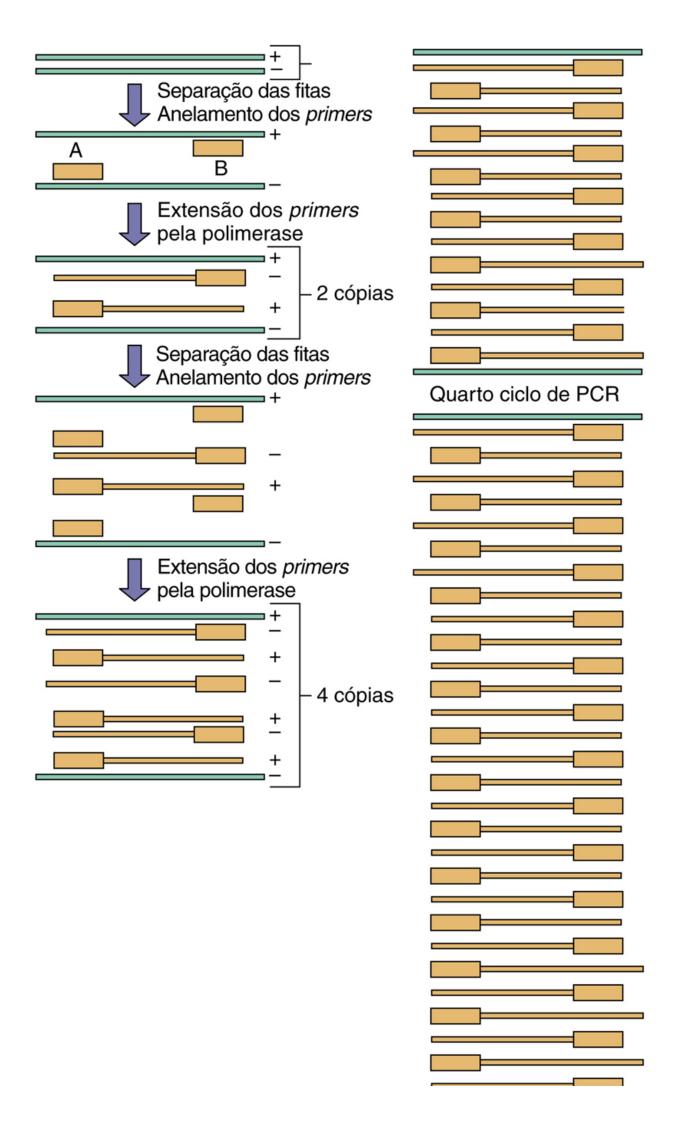


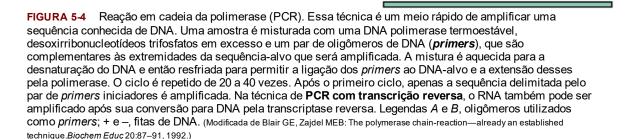
FIGURA 5-3 Localização *in situ* da infecção por citomegalovírus (CMV) utilizando sonda genética. A infecção dos túbulos renais por CMV é localizada com sonda de DNA específica para CMV marcada com biotina e é visualizada pela conversão do substrato pelo conjugado avidina-peroxidase, de forma semelhante a um imunoensaio enzimático. (Cortesia de Donna Zabel, Akron, Ohio.)

Sequências específicas de ácido nucleico extraídas de amostra clínica podem ser detectadas pela aplicação de um volume pequeno do extrato em um filtro de nitrocelulose (*dot blot*), seguida da adição de uma sonda de DNA viral específico marcado. Alternativamente, os produtos de clivagem de uma endonuclease de restrição separados por eletroforese podem ser transferidos para um filtro de nitrocelulose (*Southern blot* — hibridização DNA-DNA) e então uma sequência específica pode ser identificada pela hibridização com uma sonda genética específica e por sua mobilidade eletroforética característica. Moléculas de RNA separadas por eletroforese (*Northern blot* — hibridização RNA-DNA) e transferidas para um filtro de nitrocelulose podem ser detectadas de forma similar.

A reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês, polymerase chain reaction) amplifica poucas cópias de DNA viral milhões de vezes e é uma das técnicas mais úteis de análise genética (Fig. 5-4). Nessa técnica, uma amostra é incubada com um par de pequenos oligômeros de DNA, denominados *primers*, que são complementares às extremidades de uma

sequência genética conhecida presente no DNA total, DNA polimerase termoestável (Taq ou outra polimerase obtida de bactérias termofílicas), nucleotídeos e tampões. Os oligômeros hibridizam com a sequência de DNA-molde apropriada e atuam como *primers* para a polimerase, que copiará esse segmento específico do DNA. A amostra é então aquecida para desnaturar o DNA (separando as fitas da dupla-hélice), e resfriada para permitir a hibridização dos *primers* na nova molécula de DNA (recém-sintetizada). Cada cópia de DNA se torna um novo molde. O processo é repetido muitas vezes (20 a 40) para amplificar a sequência de DNA original de forma exponencial. Uma sequência-alvo de DNA pode ser amplificada um milhão de vezes, em poucas horas, utilizando-se esse método. Essa técnica é especialmente útil para detecção de sequências de vírus latentes ou integrados no genoma do hospedeiro, como as sequências de retrovírus, herpesvírus, papilomavírus e outros vírus de DNA.





A técnica de **RT-PCR** (reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa) é uma variação da PCR, que envolve o uso da transcriptase reversa de retrovírus para converter RNA viral ou RNA mensageiro em DNA, antes da amplificação pela PCR. Em 1993, sequências de hantavírus foram utilizadas como *primers* na técnica de RT-PCR para identificar o agente causador de um surto de doença pulmonar hemorrágica, em uma região do estado do Novo México, conhecida como Four Corners. Foi demonstrado que o agente infeccioso era um hantavírus.

A técnica de **PCR em tempo real** pode ser utilizada para quantificar amostras de DNA ou RNA, após ser convertido em DNA pela transcriptase reversa. De forma simples, quanto mais DNA estiver presente na amostra, mais rapidamente novas moléculas de DNA serão sintetizadas na PCR, sendo a cinética da reação proporcional à quantidade de DNA. A produção de DNA de dupla-fita é medida pelo aumento da fluorescência de uma molécula ligada ao DNA de dupla-fita ou por outros meios. Esse procedimento é útil para quantificar o número de genomas do vírus da imunodeficiência humana (HIV) presente no sangue de um paciente, para avaliar o curso da doença e a eficácia do fármaco antiviral.

A técnica de **DNA de cadeia ramificada** é de hibridização alternativa à PCR e à RT-PCR para detecção de pequenas quantidades de sequências específicas de RNA ou DNA. Essa técnica é especialmente útil para quantificação dos níveis plasmáticos de RNA do HIV (carga viral plasmática). Nesse caso, o plasma é incubado em um tubo especial alinhado com uma pequena sequência de DNA complementar (DNAc) para capturar o RNA viral. Outra sequência de DNAc é adicionada para se ligar à amostra, que está ligada a uma molécula de DNA de cadeia ramificada artificialmente. Durante o processo, cada ramificação é capaz de iniciar um sinal detectável. Isso amplifica o sinal da amostra original. O **ensaio de captura híbrida** detecta e quantifica híbridos de RNA-DNA utilizando um anticorpo específico para o complexo, em uma técnica similar ao método de ELISA (ensaio imunossorvente ligado à enzima) (Cap. 6).

Existem *kits* comercialmente disponíveis para testes que utilizam variações das técnicas anteriormente mencionadas, utilizados para detectar, identificar e quantificar diferentes micróbios.

O **sequenciamento de DNA** tem se tornado rápido e barato o suficiente para permitir a determinação laboratorial de sequências microbianas para identificação de micróbios. O sequenciamento da subunidade ribossomal 16S pode ser utilizado para identificar bactérias específicas. O sequenciamento de vírus pode ser utilizado para identificá-los e para distinção entre cepas diferentes (p.ex., cepas específicas de *influenza*).

A espectrometria de massa por tempo de voo de desorpção/ionização a laser, assistida por matriz, é uma poderosa, nova e rápida abordagem para determinar sequências de RNA, DNA e proteínas. O DNA ou RNA é inserido no instrumento, ionizado e fragmentado, os fragmentos são separados com base na sua relação carga-massa, e a sequência nucleotídica é determinada através da análise da massa dos fragmentos ionizados. A comparação de genes específicos (p.ex., 16S RNA) ou sequências amplificadas por PCR, a um banco de sequências de genes, pode permitir a detecção microbiana rápida, a identificação de bactérias e vírus e a discriminação de estirpes específicas de micróbios.

Detecção de Proteínas

Em alguns casos, os vírus e outros agentes infecciosos podem ser identificados com base na detecção de certas enzimas características ou proteínas específicas. Por exemplo, a detecção de atividade da enzima transcriptase reversa no soro ou cultura de células indica a presença de um retrovírus. O perfil de proteínas de um vírus ou outro agente obtido após eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) pode ser utilizado para identificar e distinguir cepas diferentes de vírus ou bactérias. Na técnica de SDS-PAGE, o dodecil sulfato de sódio se liga à estrutura primária da proteína para produzir uma estrutura de peptídeos com razão tamanho/carga uniforme, de modo que a mobilidade da proteína no gel seja inversamente relacionada com o logaritmo de seu peso molecular. Por exemplo, os perfis de proteínas do HSV separadas por eletroforese podem ser utilizados para distinguir tipos e cepas diferentes de HSV-1 e HSV-2. A espectrometria de massa MALDI-TOF também utiliza o peso molecular para distinguir diferentes proteínas. Anticorpos podem ser utilizados para identificar proteínas específicas separadas por SDS-PAGE utilizando a técnica de *Western blot* (Fig. 6-6). As técnicas moleculares utilizadas para identificar agentes infecciosos estão sumarizadas na Tabela 5-1.



Técnicas Moleculares

Técnica	Objetivo	Exemplos Clínicos
RFLP	Comparação de DNA	Epidemiologia molecular, cepas de HSV-1
Eletroforese de DNA	Comparação de DNA	Diferenças entre cepas virais (até 20.000 bases)
Eletroforese em gel de campo pulsado	Comparação de DNA (fragmentos grandes de DNA)	Comparação entre cepas estreptocócicas
Hibridização in situ	Detecção e localização de sequências de DNA em tecido	Detecção de DNA de vírus não replicante (p.ex., citomegalovírus, papilomavírus humano)
Dot blot	Detecção de sequência de DNA em solução	Detecção de DNA viral
Southern blot	Detecção e caracterização de sequências de DNA pelo tamanho	Identificação de cepas virais específicas
Northern blot	Detecção e caracterização de sequências de RNA pelo tamanho	Identificação de cepas virais específicas
PCR	Amplificação de amostras de DNA muito diluídas	Detecção de DNA de vírus
RT-PCR	Amplificação de amostras de RNA muito diluídas	Detecção de RNA de vírus
PCR em tempo real	Quantificação de amostras de DNA e RNA muito diluídas	Quantificação do genoma do HIV: carga viral
DNA de cadeia ramificada	Amplificação de amostras de DNA e RNA muito diluídas	Quantificação de DNA e RNA de vírus
Ensaio de captura híbrida	Amplificação de amostras de DNA e RNA muito diluídas	Quantificação de DNA e RNA de vírus
Espectrometria de massa MALDI-TOF	Análise rápida e sensível de amostras de DNA, RNA e proteínas	Análise sequencial, identificação microbiana
SDS-PAGE	Separação de proteínas por peso molecular	Epidemiologia molecular de HSV

DNA, ácido desoxirribonucleico; HIV, vírus da imunodeficiência humana; HSV-1, vírus herpes simples; MALDI-TOF, ionização e dessorção a laser assistida por matriz por analisador do tipo tempo de voo; PCR, reação em cadeia da polimerase; RFLP, polimorfismo dos tamanhos dos fragmentos de restrição; RNA, ácido ribonucleico; RT-PCR, reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa; SDS-PAGE, eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio.

Referências Bibliográficas

DiPersio JR, File Jr TM, Stevens DL, et al. Spread of serious disease-producing M3 clones of group A *Streptococcus* among family members and health care workers. *Clin Infect Dis.* 1996;22:490–495.

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. ed 12 St Louis: Mosby; 2007.

Fredericks DN, Relman DA. Application of polymerase chain reaction to the diagnosis of infectious diseases. *Clin Infect Dis*. 1999;29:475–486.

Millar BC, Xu J, Moore JE. Molecular diagnostics of medically important bacterial infections. Curr Issues Mol Biol. 2007;9:21-40.

Murray PR. ASM pocket guide to clinical microbiology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2004.

Persing DH, Tenover FC, Tang Y-W, et al. *Molecular microbiology, diagnostic principles and practice*. ed 2 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

 $Specter \ S, \ Hodinka \ RL, \ Young \ SA. \ {\it Clinical virology manual}. \ ed \ 3 \ Washington, \ DC: \ American Society \ for \ Microbiology \ Press; \ 2000.$

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

CAPÍTULO 6

Diagnóstico Sorológico

Técnicas imunológicas são utilizadas para detectar, identificar e quantificar antígenos em amostras clínicas, assim como para avaliar a resposta de anticorpos a infecções e uma história pessoal de exposição a agentes infecciosos. A especificidade da interação antígeno-anticorpo e a sensibilidade de muitas técnicas imunológicas tornam-nas poderosas ferramentas laboratoriais (Tabela 6-1). Em muitos casos, a mesma técnica pode ser adaptada para avaliação de antígenos e anticorpos. Como muitos ensaios sorológicos são desenvolvidos para gerar um resultado positivo ou negativo (qualitativo), a quantificação de um anticorpo é obtida por titulação. O título de um anticorpo é definido como a maior diluição da amostra que mantém atividade detectável.



Tahela 6-4

Exemplos de Técnicas Imunológicas

Técnica	Objetivo	Exemplos Clínicos
Imunodifusão dupla de Ouchterlony	Detectar e comparar antígeno e anticorpo	Antígeno e anticorpo fúngicos
Imunofluorescência	Detecção e localização do antígeno	Antígeno viral em biópsia (p.ex., raiva, vírus herpes simples)
Ensaio imunoenzimático (EIA)	Semelhante ao da imunofluorescência	Semelhantes ao da imunofluorescência
Imunofluorescência por citometria de fluxo	Análise de populações e subpopulações de células, incluindo populações celulares positivas para determinado antígeno	Imunofenotipagem
ELISA	Quantificação de antígeno ou anticorpo	Antígeno viral (rotavírus); anticorpo viral (anti- HIV)
Western blot	Detecção de antígeno ou de anticorpo antígeno-específico	Confirmação de soropositividade anti-HIV (anticorpo)
Radioimunoensaio (RIA)	Semelhantes ao do ELISA	Semelhantes ao do ELISA
Fixação do complemento	Determinação dos títulos de anticorpos específicos	Anticorpo fúngico ou viral
Inibição da hemaglutinação	Determinação dos títulos de anticorpos antivirais; detecção de sorotipos de cepas virais	Soroconversão para determinado sorotipo de <i>influenza</i> ; identificação do vírus da <i>influenza</i>
Aglutinação em látex	Detecção e quantificação e de antígenos e anticorpos	Fator reumatoide, antígenos fúngicos, antígenos de estreptococos

ELISA, ensaio imunoabsorvente ligado à enzima; HIV, vírus da imunodeficiência humana.

Anticorpos

Os anticorpos podem ser utilizados como ferramentas sensíveis e específicas para detecção e quantificação de antígenos de um vírus, bactéria, fungo ou parasita. Anticorpos específicos podem ser obtidos a partir de pacientes convalescentes (p.ex., anticorpos antivirais) ou preparados em animais. Esses anticorpos são **policlonais**, pois são preparações heterogêneas de anticorpos que podem reconhecer muitos epítopos em um único antígeno. Anticorpos **monoclonais** reconhecem epítopos individuais em um antígeno. Anticorpos monoclonais específicos para diferentes antígenos estão comercialmente disponíveis, sobretudo para antígenos de superfície dos linfócitos.

O desenvolvimento da tecnologia de anticorpos monoclonais revolucionou a ciência da imunologia. Por exemplo, devido à especificidade desses anticorpos, subpopulações de linfócitos (p.ex., células T CD4 e CD8) e antígenos de superfície

linfocitária foram identificados. Os anticorpos monoclonais são produtos de células híbridas geradas pela fusão e clonagem de uma célula do baço de um camundongo imunizado e uma célula de mieloma, que produz um hibridoma. O mieloma imortaliza as células B esplênicas produtoras de anticorpos. Cada clone de hibridoma é uma fábrica produtora de uma molécula de anticorpo, resultando em um anticorpo monoclonal que reconhece somente um epítopo. Os anticorpos monoclonais podem ser preparados e manipulados por meio de engenharia genética e "humanizados" para uso terapêutico.

As vantagens dos anticorpos monoclonais incluem (1) a especificidade que pode ser limitada a um único epítopo em um antígeno e (2) a possibilidade de preparo em escala industrial a partir de preparações de culturas teciduais. E a principal desvantagem deles é que são frequentemente muito específicos, de modo que um anticorpo monoclonal específico para um epítopo de um antígeno viral de um determinado tipo pode não ser capaz de detectar tipos diferentes do mesmo vírus.

Métodos de Detecção

Os complexos antígeno-anticorpo podem ser detectados diretamente, por técnicas de precipitação ou pela marcação do anticorpo com sonda radioativa, fluorescente ou enzimática; ou de maneira indireta pela quantificação de uma reação provocada pelo anticorpo, como a fixação de complemento.

Técnicas de Precipitação e Imunodifusão

Complexos antígeno-anticorpo específicos e reatividade cruzada podem ser distinguidos por técnicas de imunoprecipitação. Em uma faixa de concentrações limitada de ambos, antígeno e anticorpo, denominada **zona de equivalência**, os anticorpos formam uma rede com os antígenos que é muito grande para ficar solúvel e, por isso, precipita. Essa técnica é baseada na natureza multivalente das moléculas de anticorpos (p.ex., imunoglobulina [Ig] G tem dois domínios de ligação ao antígeno). Os complexos antígeno-anticorpo são solúveis nas concentrações em que as proporções de antígeno para anticorpo estão acima ou abaixo das concentrações de equivalência.

Várias técnicas de imunodifusão utilizam o conceito de equivalência para determinar a identidade de um antígeno ou a presença de anticorpo. A **imunodifusão radial simples** pode ser utilizada para detectar e quantificar um antígeno. Nessa técnica, o antígeno é colocado em um orifício e se difunde pelo ágar contendo o anticorpo. Quanto maior a concentração do antígeno, maior será a área de difusão para alcançar a equivalência com o anticorpo no ágar, ocorrendo assim a precipitação e formando um anel em torno do orifício.

A técnica de **imunodifusão dupla de Ouchterlony** é utilizada para determinar a identidade imunológica de diferentes antígenos, como mostrado na Figura 6-1. Nessa técnica, soluções de anticorpos e antígenos são colocadas em orifícios individuais sulcados no ágar, sendo que os antígenos e anticorpos se difundem, um em direção ao outro, para estabelecer gradientes de concentrações de cada substância. Uma linha visível de precipitação aparecerá na região de equivalência das concentrações de antígeno e anticorpo. Tendo como base o padrão da linha de precipitação, essa técnica pode também ser utilizada para determinar se as amostras são idênticas, parcialmente idênticas (compartilham alguns, mas não todos epítopos) ou distintas. Essa técnica é utilizada para detectar anticorpos e antígenos fúngicos (p.ex., espécies de *Histoplasma*, *Blastomyces* e coccidioimicoses).

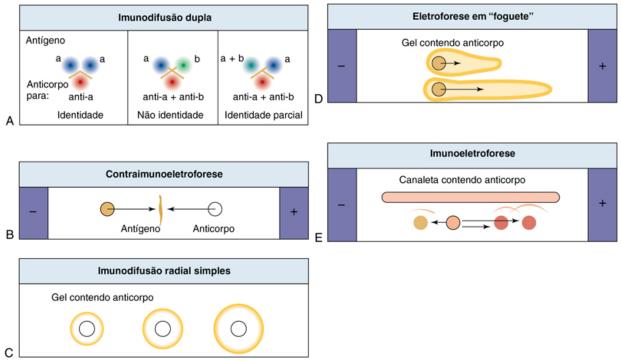


FIGURA 6-1 Análise de antígenos e anticorpos por imunoprecipitação. A precipitação da proteína ocorre na zona de equivalência, em que anticorpos multivalentes formam grandes complexos com os antígenos. A, Imunodifusão dupla de Ouchterlony. O antígeno e o anticorpo se difundem a partir dos orifícios, se encontram e formam uma linha de precipitação. Se antígenos idênticos são colocados em orifícios adjacentes, a concentração de antígenos entre os orifícios duplica e não ocorre precipitação nessa região. Se forem utilizados antígenos diferentes, são produzidas duas diferentes linhas de precipitação. Se uma amostra compartilha algum antígeno, mas não é idêntica, é formado um único esporão para o antígeno completo. B, Contraimunoeletroforese. Essa técnica é semelhante ao método de Ouchterlony, mas o movimento do antígeno é facilitado pela eletroforese. C, Imunodifusão radial simples. Essa técnica consiste na difusão do antígeno em um gel contendo anticorpo. Os anéis de precipitação indicam a ocorrência de reação antígeno-anticorpo, e a área do anel é proporcional à concentração do antígeno. D, Eletroforese em "foguete". Os antígenos são separados por eletroforese em um ágar que contém anticorpo. O comprimento do "foguete" indica a concentração do antígeno. E, Imunoeletroforese. O antígeno é depositado em um orifício e é separado por eletroforese. O anticorpo é então colocado em uma canaleta, e se formam linhas de precipitação quando o antígeno e o anticorpo se difundem um em direção ao outro.

Em outras técnicas de imunodifusão, o antígeno deve ser separado por eletroforese em ágar e então exposto ao anticorpo (imunoeletroforese); pode ser submetido à eletroforese em ágar que contém anticorpo (eletroforese em "foguete"); ou o antígeno e anticorpo podem ser depositados em orifícios separados para que se movam um em direção ao outro, durante a eletroforese (contraimunoeletroforese).

Imunoensaios para Antígenos Associados a Células (Imunohistologia)

Antígenos na superfície celular ou dentro da célula podem ser detectados por **imunofluorescência** ou **ensaio imunoenzimático** (EIA). Na **imunofluorescência** direta, uma molécula fluorescente é covalentemente ligada ao anticorpo (p.ex., anticorpo de coelho antivírus marcado com isotiocianato de fluoresceína [FITC]). Na **imunofluorescência** indireta, um segundo anticorpo fluorescente, específico para o primeiro anticorpo (p.ex., anticorpo de cabra marcado com FITC, antianticorpo de coelho), é utilizado para detectar o anticorpo viral primário e localizar o antígeno (Figs. 6-2 e 6-3). No EIA, uma enzima, como a peroxidase de rábano silvestre ou a fosfatase alcalina, é conjugada ao anticorpo e converte o substrato em um cromóforo que sinaliza o antígeno. Alternativamente, um anticorpo modificado pela ligação a uma molécula de **biotina** (vitamina) pode ser localizado pela ligação de altíssima afinidade a moléculas de avidina ou estreptavidina. Uma molécula fluorescente ou uma enzima ligada à avidina ou estreptavidina permite a detecção. Essas técnicas são úteis para análises de amostras de biópsias teciduais, células sanguíneas e células de cultura de tecidos.

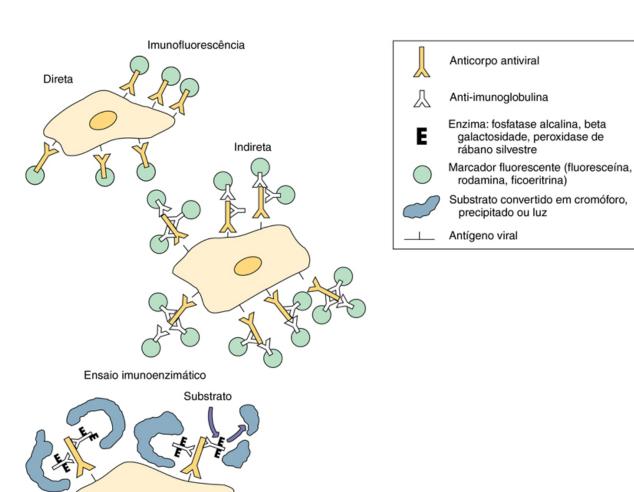


FIGURA 6-2 Imunofluorescência e ensaio imunoenzimático para localização de antígeno nas células. O antígeno pode ser detectado pelo ensaio *direto* com anticorpo antiviral ligado covalentemente a um marcador fluorescente ou enzimático (conjugado), ou pelo ensaio *indireto* utilizando anticorpo antiviral e antimunoglobulina marcada (conjugado). A enzima converte o substrato em um precipitado, cromóforo ou luz.

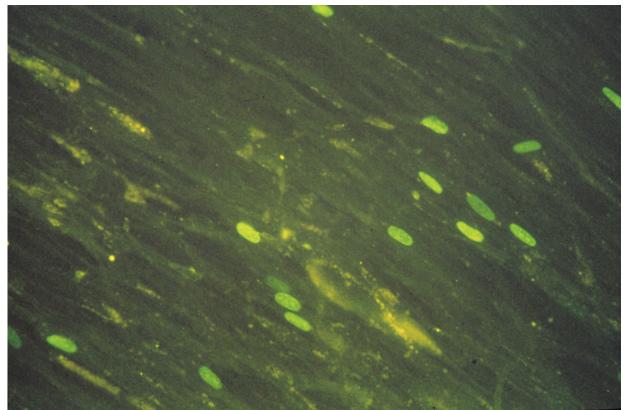
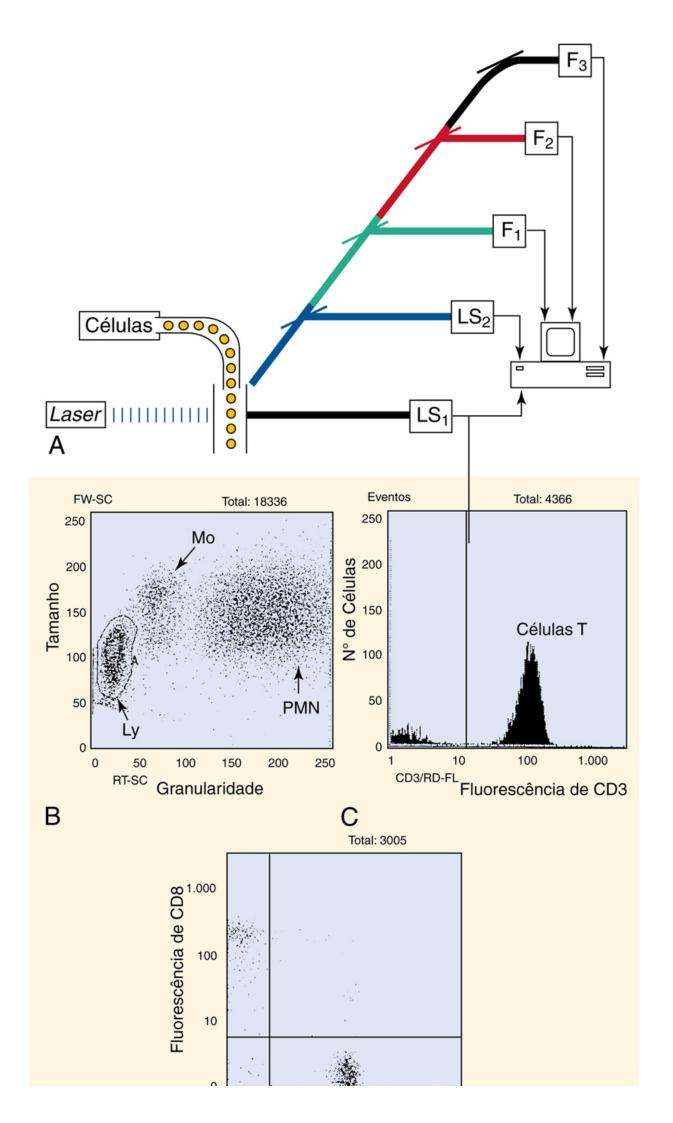


FIGURA 6-3 Detecção do vírus *Herpes simplex*, por imunofluorescência, em células neurais de corte cerebral de um paciente com encefalite herpética. (Modificada de Male D, Cooke A, Owen M, et al: *Advanced immunology*, ed 3, St Louis, 1996, Mosby.)

O citômetro de fluxo pode ser utilizado para analisar a imunofluorescência de células em suspensão e é especialmente útil para identificar e quantificar linfócitos (imunofenotipagem). O citômetro de fluxo utiliza um *laser* para excitar o anticorpo fluorescente ligado à superfície celular e para determinar o tamanho e a granularidade da célula por meio de medidas de dispersão da luz. As células passam pelo *laser* em um fluxo superior a 5.000 células por segundo, e as análises são realizadas eletronicamente. O separador de células ativado por fluorescência (FACS, do inglês, *fluorescence-activated cell sorter*) é um citômetro de fluxo que pode também isolar subpopulações específicas de células, baseando-se no seu tamanho e imunofluorescência para crescimento em cultura.

Os dados obtidos em um citômetro de fluxo são apresentados geralmente na forma de histograma, com a intensidade de fluorescência no eixo x e o número de células no eixo y, ou na forma de dot plot, na qual mais de um parâmetro por célula é comparado. O citômetro de fluxo pode realizar uma análise diferencial dos leucócitos e determinar os números e comparar simultaneamente outros parâmetros de populações de células T CD4 e CD8 (Fig. 6-4). A citometria de fluxo também é útil para analisar o crescimento celular após a marcação do ácido desoxirribonucleico (DNA) com uma molécula fluorescente e outras aplicações com moléculas fluorescentes.



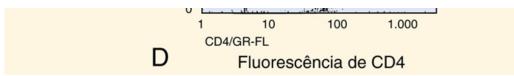


FIGURA 6-4 Citometria de fluxo. **A**, O citômetro de fluxo avalia parâmetros celulares individuais à medida que o fluxo de células passa por um feixe de *laser* numa velocidade de mais de 5.000 células por segundo. O tamanho e a granularidade das células são determinados pela dispersão da luz (*DL*), e a expressão antigênica é avaliada por imunofluorescência (*F*), utilizando anticorpos marcados com diferentes sondas fluorescentes (fluorocromos). Gráficos **B a D** representam a análise de células T de um indivíduo normal. **B**, A análise da dispersão da luz foi utilizada para definir as populações de linfócitos (*Li*), monócitos (*Mo*) e leucócitos polimorfonucleares (*PMN*, neutrófilos). **C**, Os linfócitos foram analisados quanto à expressão de CD3 para a identificação das células T (apresentadas no histograma). **D**, Identificação de células T CD4 e CD8. Cada ponto representa uma célula T. (Dados por cortesia do Dr. Tom Alexander, Akron, Ohio.)

Imunoensaios para Anticorpos e Antígenos Solúveis

O ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA, do inglês, enzyme-linked immunosorbent assay) utiliza antígeno imobilizado em uma superfície plástica, em pérolas ou filtro, para capturar e separar o anticorpo específico de outros anticorpos no soro do paciente (Fig. 6-5). Um anticorpo anti-imunoglobulina humana covalentemente ligado a uma enzima (p.ex., peroxidase de rábano silvestre, fosfatase alcalina, β-galactosidase) detecta o anticorpo do paciente que se ligou ao antígeno. Essa reação é quantificada no espectrofotômetro de acordo com a densidade ótica da cor produzida pela conversão enzimática do substrato apropriado da enzima. A concentração real do anticorpo específico pode ser determinada por comparação com a reação de um soro-padrão humano em várias concentrações. As diversas variações do ELISA diferem nos mecanismos de captura ou detecção do antígeno ou anticorpo.

В Detecção de anticorpo Captura e detecção de antígeno Αg Ąg (1) (1)+ Espécime + Soro 2 2 + Anti-imunoglobulina + Segundo anticorpo antiviral conjugada com uma enzima 3 3 + Anti-imunoglobulina conjugada + Substrato com uma enzima Substrato Ąg 4 + Substrato (5) (5)

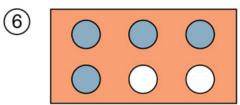


FIGURA 6-5 Ensaio imunoenzimático para quantificação de anticorpo ou antígeno. A, Detecção de anticorpo. 1, Antígeno viral (Ag) obtido de células infectadas, partícula viral ou engenharia genética é fixado em uma superfície. 2, Adiciona-se o soro do paciente permitindo que os anticorpos se liguem ao antígeno. Anticorpos não ligados são removidos por lavagens. 3, Adiciona-se o conjugado enzimático anti-imunoglobulina humana (E), e os anticorpos não ligados são removidos. 4, O substrato é adicionado e convertido em cromóforo, precipitado ou luz. B, Captura e detecção do antígeno. 1, Anticorpo antiviral é fixado em uma superfície. 2, O espécime contendo o antígeno é adicionado, e antígenos não ligados são removidos por lavagem. 3, Um segundo anticorpo antiviral é adicionado para detectar o antígeno capturado. 4, O conjugado enzimático anti-imunoglobulina humana é adicionado, lavado e exposto ao substrato (5), o qual é convertido (6) em cromóforo, precipitado ou luz.

O ensaio de ELISA também pode ser utilizado para quantificar antígeno solúvel na amostra de um paciente. Nesses ensaios, o antígeno solúvel é capturado por um anticorpo imobilizado e detectado com um segundo anticorpo marcado com enzima. Um exemplo de ELISA utilizado comumente é o teste rápido de gravidez para pesquisa do hormônio gonadotrofina coriônica humana.

A análise por Western blot é uma variação do ELISA. Nessa técnica, proteínas virais separadas por eletroforese, de acordo com o peso molecular e carga elétrica, são transferidas ("blotted") para a superfície de um papel de filtro (p.ex., nitrocelulose, nylon). Quando expostas ao soro do paciente, as proteínas imobilizadas capturam anticorpos virais específicos, e a reação é visualizada com anticorpo anti-imunoglobulina humana conjugado à enzima. Essa técnica revela as proteínas reconhecidas pelo soro do paciente. A análise por Western blot é utilizada para confirmar resultados de ELISA de pacientes com suspeita de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Fig. 6-6; também Fig. 39-7).

Western blot Transferência Transferência Membrana de NC

FIGURA 6-6 Análise por *Western blot*. As proteínas são separadas em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (*SDS-PAGE*), transferidas para membrana de nitrocelulose (*NC*) e incubadas com soro do paciente ou anticorpos específicos (*1° Ac*), e então com um segundo anticorpo anti-imunoglobulina humana conjugado com uma enzima (*2° Ac*). A conversão do substrato pela enzima identifica o antígeno.

No radioimunoensaio (RIA), anticorpo ou antígeno marcado com isótopo radioativo (p.ex., com iodo-125) é utilizado para quantificar complexos antígeno-anticorpo. O RIA pode ser realizado como ensaio de captura, conforme descrito previamente para o ELISA, ou como um ensaio de competição. Neste último, o anticorpo no soro do paciente é quantificado de acordo com sua capacidade de competir com um anticorpo marcado na formação dos complexos antígeno-anticorpo. Os complexos antígeno-anticorpo são precipitados e separados do anticorpo livre, e a radioatividade das duas frações é medida. A quantidade de anticorpo na amostra do paciente é quantificada a partir de uma curva-padrão preparada com concentrações conhecidas do anticorpo utilizado na reação de competição. O radioimunoensaio para detecção de alergênicos é uma variação do RIA de captura, em que um anticorpo anti-IgE radiomarcado é utilizado para detectar resposta específica de IgE do paciente ao alergênico.

A reação de fixação do complemento é um teste sorológico padrão, mas de difícil execução técnica (Quadro 6-1).Nesse teste, a amostra de soro do paciente reage com antígeno produzido em laboratório e complemento extra. Complexos antígeno-anticorpo ligam, ativam e fixam o complemento. O complemento residual é então calculado pela lise de hemácias cobertas com anticorpo específico (hemolisina). Anticorpos detectados por esse sistema quase sempre se desenvolvem um pouco mais tarde durante a doença, em comparação com aqueles detectados por outras técnicas. Uma variação desse teste também pode ser utilizada para identificar deficiências genéticas de componentes do sistema complemento.



Fixação do complemento
Inibição da hemaglutinação*
Neutralização*
Imunofluorescência (direta e indireta)
Aglutinação em látex
Ensaio imunoenzimático *in situ* (EIA)
Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA)
Radioimunoensaio (RIA)

Os ensaios de inibição de anticorpos utilizam a especificidade de um anticorpo para prevenir uma infecção (neutralização) ou outra atividade (inibição da hemaglutinação) para identificar a cepa do agente infectante, em geral um vírus, ou para quantificar a resposta de anticorpo para uma cepa específica de um vírus. Por exemplo, a inibição da hemaglutinação é utilizada para distinguir diferentes tipos de *influenza* A e para avaliar a potência do anticorpo desenvolvido por novas vacinas para a gripe. Esses testes são mais discutidos no Capítulo 49.

A **aglutinação pelo látex** é uma técnica rápida e simples para detectar anticorpo ou antígeno solúvel. Anticorpos virais específicos aglutinam partículas de látex cobertas com antígenos virais. Inversamente, partículas de látex revestidas com anticorpos são utilizadas para detectar antígeno viral solúvel. Na hemaglutinação passiva, eritrócitos revestidos com antígeno são empregados como indicadores em vez de partículas de látex.

Sorologia

A resposta imune humoral fornece o histórico das infecções de um paciente. A sorologia pode ser utilizada para identificar o agente infeccioso, avaliar o curso de uma infecção ou determinar a natureza da infecção — se é uma infecção primária ou uma reinfecção, e se é uma infecção aguda ou crônica. O tipo de anticorpo, o título e a identidade dos alvos antigênicos fornecem dados sobre a infecção. Testes sorológicos são utilizados para identificar vírus e outros agentes que são difíceis de isolar e cultivar em laboratório ou que causam doenças de progressão lenta (Quadro 6-2).



Quadro 6-2 Vírus Diagnosticados por Sorologia*

Vírus Epstein-Barr Vírus da rubéola Vírus das hepatites A, B, C, D e E Vírus da imunodeficiência humana Vírus da leucemia de célula T humana Arbovírus (vírus da encefalite)

A concentração relativa de anticorpos é reportada como título. O **título** é o inverso da maior diluição (menor concentração [p.ex., diluição de 1:64 = título de 64]) do soro de um paciente que apresenta reatividade em um dos imunoensaios anteriormente descritos. A concentração de IgM, IgG, IgA ou IgE que reage com o antígeno pode ser avaliada por meio do uso de um segundo anticorpo anti-imunoglobulina humana marcado que seja específico para a classe (isotipo) de anticorpo.

A sorologia é utilizada para determinar a evolução cronológica (ou o curso) de uma infecção. A **soroconversão** ocorre quando o anticorpo é produzido em resposta a uma infecção primária. Anticorpo IgM-específico, encontrado nas primeiras 2 a 3 semanas de uma infecção primária, é um bom indicador de uma infecção primária recente. Reinfecção ou recorrência da infecção mais tarde na vida do indivíduo causa uma resposta **anamnéstica** (secundária ou de reforço). No entanto, os títulos de anticorpos podem permanecer elevados em pacientes cuja doença recorre com frequência (p.ex., herpes-vírus). Soroconversão ou reinfecção são indicadas pelo aumento de, pelo menos, quatro vezes no título de anticorpos entre amostra de soro obtida durante a fase aguda da infecção e aquela obtida, pelo menos, 2 a 3 semanas mais tarde, durante a fase convalescente. Uma diluição seriada na razão 2 não distinguirá entre amostras com 512 ou 1.024 unidades de anticorpos; ambas reagirão na diluição de 1:512, mas não na diluição de 1:1.024, e ambos resultados seriam reportados como títulos de 512. Por outro lado,

^{*} Para detecção de anticorpos ou sorotipagem de vírus.

^{*} Testes sorológicos também são utilizados para determinar o estado imunológico de um indivíduo em relação a outros vírus e agentes patogênicos.

amostras com 1.020 e 1.030 unidades não são significativamente diferentes, mas seriam relatadas com títulos de 512 e 1.024, respectivamente.

A sorologia pode também ser utilizada para determinar o estágio de uma infecção de curso mais lento ou crônica (p.ex., hepatite B ou mononucleose infecciosa causada pelo vírus Epstein-Barr), com base na presença de anticorpos para antígenos microbianos específicos. Os primeiros anticorpos a serem detectados são aqueles direcionados contra antígenos mais expostos ao sistema imune (p.ex., na superfície viral, nas células infectadas, ou aqueles secretados). Mais tarde na infecção, após as células serem lisadas pelo vírus infectante ou pela resposta imune celular, são detectados anticorpos contra proteínas intracelulares e enzimas.

Referências Bibliográficas

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. ed 12 St Louis: Mosby; 2007.

Murray PR. ASM pocket guide to clinical microbiology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2004.

Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, et al. *Manual of clinical microbiology*. ed 9 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2007.

Rosenthal KS, Wilkinson JG. Flow cytometry and immunospeak. Infect Dis Clin Pract. 2007;15:183-191.

Specter S, Hodinka RL, Young SA. Clinical virology manual. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2000.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

SEÇÃO 3

Conceitos Básicos da Resposta Imune

Capítulo 7: Elementos das Respostas Protetoras do Hospedeiro

Capítulo 8: Resposta Imune Inata

Capítulo 9: Respostas Imunes Antígeno-específicas

Capítulo 10: Respostas Imunes aos Agentes Infecciosos

Capítulo 11: Vacinas Antimicrobianas

CAPÍTULO 7

Elementos das Respostas Protetoras do Hospedeiro

Vivemos em um mundo microbiano, e um mundo microbiano vive em nós e em nosso interior. Os nossos corpos são constantemente expostos a bactérias, fungos, parasitas e vírus (Quadro 7-1) e devem restringir a penetração da flora normal em tecidos estéreis, discriminar entre amigo e inimigo e defender-se contra micróbios invasores. Nossas defesas corporais são semelhantes a uma defesa militar. Os mecanismos de defesa iniciais são barreiras, tais como a pele, o ácido e a bile, do trato gastrointestinal e o muco, que inativam e impedem a entrada de agentes estranhos. Se essas barreiras estiverem comprometidas ou o agente agressor conseguir entrar de outra maneira, a defesa local da resposta inata deve rapidamente enfrentar o desafio e impedir a expansão da invasão. No início, moléculas tóxicas (defensinas e outros peptídeos, complemento) atacam o micróbio enquanto outras moléculas (complemento, lectinas e anticorpos) se ligam a ele, facilitando a sua ingestão e destruição por neutrófilos e macrófagos. Uma vez ativada, essa resposta também envia um alarme (complemento, citocinas, e quimiocinas) para outras células e atua na dilatação da vasculatura (complemento, citocinas) para proporcionar o acesso celular ao local. Se estes passos não forem eficazes, a resposta inata ativa uma defesa principal, dirigida especificamente contra o invasor, por respostas imunes antígeno-específicas (células B, anticorpos e células T) a qualquer custo (imunopatogênese). Finalmente, o tecido afetado deve ser reparado, o sistema deve retornar ao status quo, e o equilíbrio normal, regulado. O conhecimento das características do inimigo (antígenos), após exposição prévia ou vacinação, permite ao organismo montar uma resposta mais rápida e mais eficaz (ativação de células B e T de memória) na reexposição.



Quadro 7-1 Visão Geral da Resposta Imune

- Há um equilíbrio natural do corpo entre a reparação e a remoção de detritos e entre inflamação e ataque; esse equilíbrio é regulado por componentes das respostas imunes inata e específica para o antígeno (adaptativa).
- O sistema imunológico é treinado para ignorar as suas próprias proteínas e tolerar a flora normal que permanece no seu habitat normal.
- Danos teciduais e infecções desencadeiam respostas no hospedeiro; cada um fornece moléculas (padrões moleculares associados a danos [DAMP] e padrões moleculares associados a patógenos [PAMP]) reconhecidas por receptores do hospedeiro presentes na superfície das células imunes e de outras células que ativam as respostas inata e inflamatória.
- Efetores solúveis são liberados ou ativados em resposta a danos teciduais ou infecção, antes dos fagócitos ou células do sistema imunológico serem envolvidas (efetor solúvel antes do celular).
- A resposta do hospedeiro progride de inata para antígeno-específica (adaptativa).
- A resposta imune adaptativa facilita, exacerba e regula as respostas inatas.

Os diferentes elementos do sistema imune interagem e se comunicam utilizando moléculas solúveis e por interação direta célula a célula. Essas interações proporcionam os mecanismos de ativação e controle das respostas protetoras. As respostas protetoras a alguns agentes infecciosos, no entanto, são insuficientes ou demasiadamente lentas; em outros casos, a resposta à invasão é excessiva e causa dano periférico. Em qualquer um dos casos, a doença ocorre.

Ativadores Solúveis e Estimuladores das Funções Inata e Adaptativa

Células das respostas imunes inata e adaptativa se comunicam por interações célula-célula e com moléculas solúveis, incluindo produtos da clivagem do complemento, citocinas, interferons e quimiocinas. As **citocinas** são proteínas semelhantes aos hormônios, que atuam nas células para ativar e regular a resposta inata e a adaptativa (Tabela 7-1 e Quadro 7-2). Os **interferons** são também citocinas que são produzidas em resposta às infecções virais e outras infecções (interferon [IFN]- α e IFN- β) ou na ativação da resposta imune (IFN- γ); eles promovem respostas antivirais e antitumorais e estimulam respostas imunes (Cap. 8). As **quimiocinas** são proteínas pequenas (\approx 8.000 Da) que atraem células específicas para os locais da inflamação e para outros pontos imunologicamente importantes. Neutrófilos, basófilos, células *natural killer* (NK), monócitos e células T expressam receptores e podem ser ativados por quimiocinas específicas. As quimiocinas e outras proteínas (p.ex., os produtos C3a e C5a da cascata do complemento) são fatores quimiotáticos que estabelecem uma

via química para atrair células fagocitárias e inflamatórias para o local da infecção. Os fatores que estimulam a produção dessas moléculas, e as consequências das interações com seus receptores em células específicas, determinam a natureza da resposta inata e adaptativa. Mnemônicas úteis para auxiliar no aprendizado relacionado com as citocinas: STAT — fonte (célula) (do inglês, Source), desencadeante (do inglês, Trigger), ação (do inglês, Action), alvo (receptor e célula) (do inglês, Target); e às respostas, TICTOC — desencadeante (do inglês, Trigger), indutor (do inglês, Inducer), células (produtora e respondedora) (do inglês, Cells), curso de tempo (do inglês, Timecourse), desfecho (do inglês, Outcome), citocinas (do inglês, Cytokines).

Citocinas e Quimiocinas

Fator	Fonte	Alvo Principal	Função
Respostas Inatas e de Fase	Aguda		
IFN-α, IFN-β	Leucócitos, pDC, fibroblastos e outras células	Células infectadas por vírus, células tumorais, células NK	Indução do estado antiviral; ativação de células NK; aumento da imunidade mediada por célula
IL-1α, IL-1β	Macrófagos, DC, fibroblastos, células epiteliais, células endoteliais	Células T, células B, PMNs, tecidos, sistema nervoso central, fígado etc.	Muitas ações: promoção de respostas inflamatórias e de fase aguda, febre, ativação de células T e macrófagos
TNF-α (caquexina)	Semelhante à IL-1	Macrófagos, células T, células NK, células epiteliais e muitas outras células	Semelhante à IL-1 e também funções antitumorais e associadas ao definhamento (caquexia, perda de peso), sepse, ativação endotelial
IL-6	DC, macrófagos, células T e B, fibroblastos, células epiteliais, células endoteliais	Células T e B, hepatócitos	Estimulação de respostas de fase aguda e inflamatórias, crescimento e desenvolvimento de células T e B
IL-12, IL-23	DC, macrófago	Células NK, células CD4 Th1, células Th17	Ativação de respostas inflamatórias e mediadas por células T, produção de IFN-γ ou IL-17
Crescimento e Diferenciaç	ão		
Fatores estimuladores de colônia (p.ex., GM-CSF)	Células T, células do estroma	Células-tronco	Crescimento e diferenciação de tipos celulares específicos, hematopoiese
IL-3	Células T CD4, queratinócitos	Células-tronco	Hematopoiese
IL-7	Medula óssea, estroma	Células precursoras e células-tronco	Crescimento de células pré-B, timócito, células T e linfócito citotóxico
Respostas Th1 e Th17			
IL-2	Células T CD4 (Th0, Th1)	Células T, células B e células NK	Crescimento de células T e B, ativação de células NK
ΙΕΝ-γ	Células CD4 Th1, células NK	Macrófagos,* DC, células T, células B	Ativação de macrófago, promoção de mudança de classe para IgG, desenvolvimento de inflamação e de resposta Th1, mas inibição de resposta Th2
TNF-β	Células CD4 Th1	PMN, células tumorais	Linfotoxina: extermínio do tumor, ativação de PMN, ativação endotelial
IL-17	Células CD4 Th17	Células epiteliais, endoteliais e fibroblásticas; neutrófilos	Ativação do tecido para promover inflamação, mesmo na presença de TGF-β
Respostas Th2			
IL-4	Células T CD4 (Th0, Th2)	Células B e T	Crescimento de células T e B; produção de IgG, IgA e IgE; respostas Th2
IL-5	Células CD4 Th2	Células B, eosinófilos	Crescimento e diferenciação de células B, produção de IgG, IgA e IgE, produção de eosinófilos, respostas alérgicas
		Células B e células CD4	Crescimento de células B, inibição da resposta

Fator	Fonte	Alvo Principal	Função
TGF-β (também IL-10)	Células Treg CD4	Células B, células T, macrófagos	Imunossupressão de células B, T e NK e macrófagos, promoção de tolerância oral, cicatrização de ferimentos, produção de IgA
Quimiocinas			
α-quimiocinas: quimiocinas CXC – duas cisteínas separadas por um aminoácido (IL-8; IP-10; GRO-α; GRO-β; GRO-γ)	Muitas células	Neutrófilos, células T e macrófagos	Quimiotaxia, ativação
β-quimiocinas: quimiocinas CC – duas cisteínas adjacentes (MCP-1; MIP-α; MIP-β; RANTES)	Muitas células	Células T, macrófagos e basófilos	Quimiotaxia, ativação

CD, grupo de diferenciação; DC, células dendríticas; GM-CSF, fator estimulador de colônia de granulócito-macrófago; GRO-γ, oncogene-γ relacionado com o crescimento; IFN-α,-β,-γ, interferon-α,-β,-γ; Ig, imunoglobulina; IL, interleucina; IP, proteína interferon-α; MCP, proteína quimioatrativa de monócitos; MIP, proteína inflamatória do macrófago; NK, célula natural killer, pDC, células dendríticas plasmocitoides; PMN, leucócito polimorfonuclear; RANTES, regulado sob ativação, expresso e secretado por células T normais; TGF-β, fator de transformação do crescimento-β (TGF-β); Th, célula T auxiliar (helper); TNF-α, fator de necrose tumoral-α.

^{*} Aplica-se a um ou mais tipos celulares da linhagem monócito-macrófago.



Quadro 7-2 Principais Células Produtoras de Citocinas

Inatas (Respostas de Fase Aguda)

Células dendríticas, macrófagos e outras: IL-1, TNF-α, IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, GM-CSF, quimiocinas, IFN-α, IFN-β

Imunes: Células T (CD4 e CD8)

Células Th1: IL-2, IFN-γ, TNF-α, TNF-β, IL-3, GM-CSF,

Células Th2: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-3, IL-9, IL-13, GM-CSF, TNF- α

Células Th17: IL-17, TNF- α Células Treg: TGF- β e IL-10

GM-CSF, fator estimulador de colônia de granulócito-macrófago; IFN- α ,- β ,- γ , interferon- α ,- β ,- γ ; IL, interleucina; TGF- β , fator de transformação do crescimento- β ; TNF- α , fator de necrose tumoral- α .

Células da Resposta Imune

As respostas imunes adaptativas são mediadas por células específicas com funções definidas. As características dessas células e seus aspectos são apresentados na Figura 7-1 e nas Tabelas 7-2 e 7-3. Para cada uma dessas células é importante conhecer o CARP: marcadores de superfície celular (p.ex., CD4, TCR, etc.) (do inglês, Cell surface markers), ações (matar, suprimir, ativar etc.) (do inglês, Actions), papel (tipo de resposta) (do inglês, Role), produtos (citocinas, anticorpos etc.) (do inglês, Products). Os leucócitos podem ser distinguidos com base na (1) morfologia, (2) coloração histológica, (3) funções imunológicas e (4) marcadores intracelulares e de superfície celular. Linfócitos B e T podem ser caracterizados pela expressão de receptores de antígeno nas suas superfícies, imunoglobulinas para as células B e receptores de célula-T (TCR) para as células T. Outras proteínas de superfície celular distinguem subpopulações destes e de outros tipos celulares. Essas proteínas marcadoras são identificadas com anticorpos monoclonais. Elas são definidas dentro de grupos de diferenciação (como determinado por todos os anticorpos monoclonais que reconhecem a mesma molécula [p.ex., CD4] ou grupo de moléculas [p.ex., CD3]) e os marcadores são indicados pelos números do "CD" (grupo de diferenciação; ou, do inglês, cluster of differentiation) (Tabela 7-4). Além disso, todas as células nucleadas expressam antígenos de classe I do complexo principal de histocompatibilidade (MHC I, do inglês, major histocompatibility complex I) (na espécie humana: HLA-A, HLA-B, HLA-C).

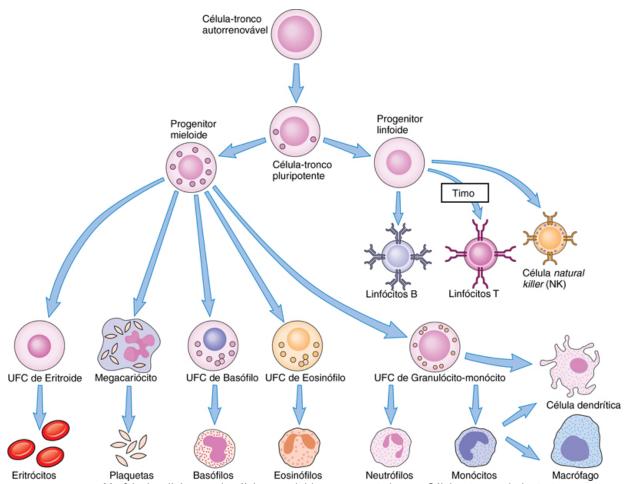


FIGURA 7-1 Morfologia e linhagem de células envolvidas na resposta imune. Células-tronco pluripotentes e unidades formadoras de colônia (UFC) são células de vida longa capazes de renovar as células mais diferenciadas funcional e terminalmente. (Modificado de Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al: Cellular and molecular immunology, ed 8, Philadelphia, 2015, Elsevier.)



Células da Resposta Imune

Células	Características e Funções	
Células Linfoides Inatas (ILCs)	Produzem citocinas	
Células NK	Linfócitos grandes, granulares Marcadores: receptores para porção Fc de anticorpo, KIR Destroem células revestidas por anticorpos, células infectadas por vírus ou células tumorais (sem restrição de MHC)	
Células Fagocitárias		
Neutrófilos	Granulócitos de vida curta, núcleo multilobulado, citoplasma granulado, formas em bastão (mais imaturas) e segmentados Fagocitam e matam bactérias (leucócitos polimorfonucleares)	
Eosinófilos	Núcleo bilobulado, citoplasma intensamente granulado, coloração com eosina Envolvidos na defesa contra parasitas e na resposta alérgica	
Células Fagocitárias Apresentadoras de Antígenos (APC)	Marcador: células que expressam MHC de classe II Processam e apresentam antígenos às células T CD4	
Monócitos*	Núcleo em forma de ferradura, presença de lisossomos e grânulos Precursores de células da linhagem dos macrófagos e células dendríticas, liberação de citocinas	
Células dendríticas imaturas	Sangue e tecido Resposta de citocina à infecção, processamento de antígenos	
Células dendríticas [*]	Linfonodos, tecido A mais potente célula APC; inicia e determina a natureza da resposta das células T	
Células de Langerhans [*]	Presentes na pele As mesmas funções das células dendríticas imaturas	
Macrófagos*	Possível residência nos tecidos, no baço, nos linfonodos e em outros órgãos; ativados por IFN-γ e TNF Marcadores: células grandes granulares; receptores para Fc e C3b (M2) Removem os resíduos, mantêm a função do tecido normal e facilitam a reparação, APC (M1) Células ativadas iniciam resposta inflamatória e de fase aguda; células ativadas são antibacterianas e APC	
Células T Responsivas a Antígen	os	
Células T (todas)	Amadurecem no timo; núcleo grande, citoplasma pequeno Marcadores: CD2, CD3 e receptor de célula T (TCR)	
Células T CD4 TCRα/β	Células auxiliares/DTH; ativação por APC via apresentação de antígeno pelo MHC classe II Produzem citocinas; estimulam o crescimento de células T e B; promovem diferenciação da célula B (mudança de classe, produção de anticorpos) Subtipo Th1 (produção de IL-2, IFN-γ, LT): promovem as defesas mediadas por anticorpos e células (locais e sistêmicas), DTH, células T CD8 citotóxicas Subtipo Th2 (produção de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10): promovem respostas humorais (anticorpo) (sistêmicas) Subtipo Th17 (IL-17, TNF-α, IL-6): estimulam células epiteliais e neutrófilos e a inflamação Células T reguladoras (Treg) (TGF-β, IL-10): controlam a ativação das células T CD4 e CD8 e outras células, importantes para a imunotolerância	
Células T citotóxicas CD8 TCRα/β	Reconhecimento do antígeno apresentado pelas moléculas MHC de classe I Matam células virais, tumorais e células não próprias (transplantes); secretam citocinas Th1	
Células T TCRγ/δ	Marcadores: CD2, CD3, receptor de célula T γ/δ Detecção precoce de algumas infecções bacterianas no tecido e no sangue	
Células NKT	Expressam receptores de células NK, TCR e CD3 Resposta rápida à infecção; liberação de citocina	
Células Produtoras de Anticorpo	5	

Células	Características e Funções	
Células B	Amadurecem na medula óssea (equivalente da bursa), placas de Peyer Núcleo grande, citoplasma pequeno; ativação por antígenos e fatores de célula T Marcadores: imunoglobulina de superfície, moléculas MHC de classe I I Produzem anticorpo e apresentam antígenos	
Plasmócitos	Núcleo pequeno, citoplasma grande Terminalmente diferenciados, fábricas de anticorpo	
Outras Células		
Basófilos/mastócitos Granulocíticos Marcador: receptores para Fc de IgE Liberam histamina, promovem resposta alérgica, são antiparasitários		
Plaquetas	Liberam fatores de coagulação, peptídeos antimicrobianos, quimiocinas e citocinas quando da ativação	

SNC, sistema nervoso central; DHT, hipersensibilidade do tipo tardia; IFN-γ, interferon-γ; Ig, imunoglobulina; IL, interleucina; KIR, receptor tipo imunoglobulina da célula NK; LT, linfotoxina; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; NK, célula natural killer, TCR, receptor de célula T; TGF-β, fator de transformação do crescimento-β; Th, célula T auxiliar; TNF-α, fator de necrose tumoral-α.

^{*} Linhagem monócito/macrófago.



Tabela 7-3

Contagem Normal de Células Sanguíneas

Tipo Celular	Número Médio por Microlitro	Intervalo Normal
Glóbulos brancos (leucócitos)	7.400	4.500-11.000
Neutrófilos	4.400	1.800-7.700
Eosinófilos	200	0-450
Basófilos	40	0-200
Linfócitos	2.500	1.000-4.800
Monócitos	300	0-800

Modificado de Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al: Cellular and molecular immunology, ed 8, Philadelphia, 2015, Elsevier.



Seleção de Marcadores CD Importantes

Marcadores CD	Identidade e Função	Célula	
CD1 (a-d)	Semelhante ao MHC I, apresentação de antígeno glicolipídico	DC, macrófago	
CD2 (LFA-3R)	Receptor de eritrócito	Células T	
CD3	Subunidade TCR (γ, δ, ε, ζ, η); ativação	Células T	
CD4	Receptor de MHC classe II	Subpopulação de célula T, monócitos, algumas DC	
CD8	Receptor de MHC classe I	Subpopulação de célula T	
CD11b (CR3)	Receptor 3 (cadeia α) do componente C3b do complemento	NK, células mieloides	
CD14	Receptor de proteína de ligação ao LPS	Células mieloides (monócitos, macrófagos)	
CD16 (Fc-γ RIII)	Fagocitose e ADCC	Marcador de célula NK, macrófagos, neutrófilos	
CD21 (CR2)	Receptor do C3d do complemento, receptor de EBV, ativação de célula B	Células B	
CD25	Receptor de IL-2 (cadeia α), marcador de ativação precoce, marcador de células reguladoras	Células T e B ativadas, células T reguladoras	
CD28	Receptor para a coestimulação de B7: ativação	Células T	
CD40	Estimulação de célula B, DC e macrófago	Célula B, macrófago	
CD40 L	Ligante para o CD40	Célula T	
CD45RO	Isoforma (em células de memória)	Célula T, célula B	
CD56 (NKH1)	Molécula de adesão	Célula NK	
CD69	Marcador de ativação celular	Células T, B e NK ativadas, macrófagos	
CD80 (B7-1)	Coestimulação de células T	DC, macrófagos, célula B	
CD86 (B7-2)	Coestimulação de células T	DC, macrófagos, célula B	
CD95 (Fas)	Indutor de apoptose	Muitas células	
CD152 (CTLA-4)	Receptor para B7; tolerância	Célula T	
CD178 (FasL)	Ligante de Fas: indutor de apoptose	Células T citotóxicas e células NK	
Moléculas de A	Adesão		
CD11a	LFA-1 (cadeia α)		
CD29	VLA (cadeia β)		
VLA-1, VLA-2, VLA-3	Integrinas α Células T		
VLA-4	Receptor local de integrina $lpha_4$	Célula T, célula B, monócito	
CD50	ICAM-3	Linfócitos e leucócitos	
CD54	ICAM-1		
CD58	LFA-3		

Modificada de Male D, Cooke A, Owen M, et al: Advanced immunology, ed 3, St Louis, 1996, Mosby.

ADCC, citotoxicidade celular dependente de anticorpo; CD, grupos de diferenciação; CTLA-4, proteína-4 associada ao linfócito T citotóxico; DC, célula dendrítica, EBV, vírus Epstein-Barr; ICAM-1,-3, molécula de adesão intercelular; Ig, imunoglobulina; IL, interleucina; LFA-1,-3R, antígeno-1,-3R associado à função do leucócito; LPS, lipopolissacarídeo; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; NK, célula natural killer; TCR, receptor antigênico de célula T; VLA, ativação muito tardia (antígeno).

Uma classe especial de células, que são aquelas que apresentam antígenos (APCs; do inglês, antigen-presenting cells), expressa antígenos de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC II) (HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ). As APCs que apresentam peptídeos antigênicos para as células T incluem as células dendríticas, as células da família do macrófago, os linfócitos B e um número limitado de outros tipos celulares.

Diferenciação das Células Hematopoiéticas

A diferenciação de uma célula progenitora comum, denominada **célula-tronco pluripotente**, dá origem a todas as células sanguíneas. A diferenciação dessas células inicia-se durante o desenvolvimento fetal e continua por toda a vida. A célula-tronco pluripotente se diferencia em células-tronco (às vezes, chamadas de unidades formadoras de colônia) para diferentes linhagens de células sanguíneas, incluindo as linhagens linfoide (células T e B), mieloide, eritrocítica e megacarioblástica (fonte de plaquetas) (Fig. 7-1). As células-tronco residem primariamente na medula óssea, mas também podem ser isoladas do sangue fetal de cordões umbilicais e como células raras no sangue adulto. A diferenciação das células-tronco em células sanguíneas funcionais é desencadeada por interações específicas da superfície celular com as células do estroma da medula e citocinas específicas produzidas por estas e por outras células.

A medula óssea e o timo são considerados **órgãos linfoides primários** (Fig. 7-2 e Quadro 7-3). Esses locais de diferenciação linfocitária inicial são essenciais para o desenvolvimento do sistema imune. O timo é essencial, ao nascimento, para o desenvolvimento da célula T, mas involui com a idade, e outros tecidos adotam sua função mais tarde. Os **órgãos linfoides secundários** incluem os **linfonodos**, **o baço**, **a pele e o tecido linfoide associado à mucosa (MALT**, do inglês, *mucosa-associated lymphoid tissue*); este último inclui também o tecido linfoide associado ao intestino (GALT, do inglês, *gut-associated lymphoid tissue*) (p.ex., placas de Peyer) e o tecido linfoide associado aos brônquios (BALT, do inglês, *bronchus-associated lymphoid tissue*) (p.ex., pulmão). Esses são os locais onde as células dendríticas e os linfócitos T e B residem e respondem aos estímulos antigênicos. As células dos órgãos primários e secundários produzem quimiocinas e expressam moléculas de adesão na superfície celular (adressinas) que interagem com receptores locais (moléculas de adesão celular), expressos nas células T e B.

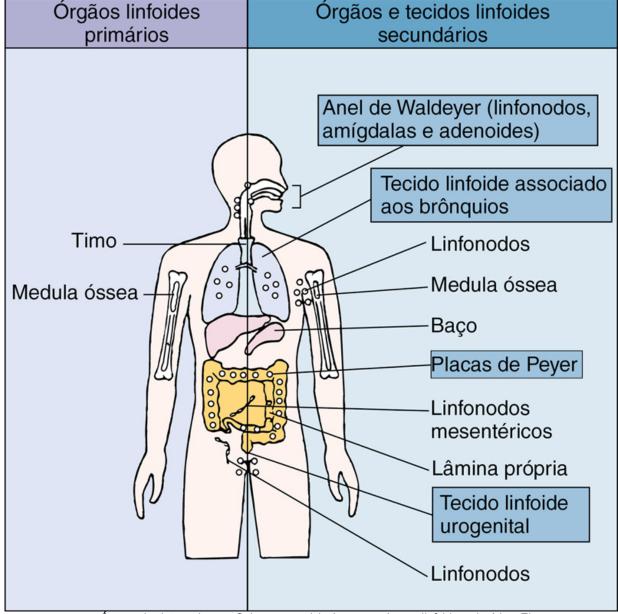


FIGURA 7-2 Órgãos do sistema imune. O timo e a medula óssea são órgãos linfoides primários. Eles são locais de maturação para as células T e B, respectivamente. As respostas imunes celulares e humorais se desenvolvem nos órgãos e tecidos linfoides secundários (periféricos); células efetoras e de memória são geradas nesses órgãos. O baço responde predominantemente aos antígenos transportados pelo sangue. Os linfonodos produzem respostas imunes a antígenos no líquido intercelular e na linfa, absorvidos ou através da pele (linfonodos superficiais) ou das vísceras internas (linfonodos profundos). As amígdalas, placas de Peyer e outros tecidos linfoides associados à mucosa (caixas azuis) respondem aos antígenos que penetraram as barreiras mucosas superficiais. (De Male D, Brostoff J, Roth DB, et al: Immunology, ed 8, Philadelphia, 2013, Elsevier.)



Quadro 7-3 Órgãos do Sistema Imune

Timo

Necessário ao nascimento para o desenvolvimento de células T Local de maturação de células T e do desenvolvimento de tolerância central

Medula Óssea

Fonte de células-tronco

Maturação de células B e desenvolvimento de tolerância central

Linfonodo

Folículo: zona de células B

Centro germinativo: local de proliferação de células B, desenvolvimento de plasmócitos e células de memória Paracórtex: zona de células T

Baço

Polpa branca

Folículos: zona de células B

Bainha linfoide periarteriolar (PALS): zona de células T

Polpa vermelha

Região rica em macrófagos para filtragem de sangue, remoção de células danificadas e micróbios

Tecido Linfoide Associado à Mucosa

Pele

O baço e os linfonodos são órgãos encapsulados nos quais os macrófagos e as células T e B residem, em regiões definidas. Sua localização facilita as interações que promovem as respostas imunes ao antígeno (Fig. 7-3). A proliferação dos linfócitos em resposta a um estímulo infeccioso faz com que esses tecidos fiquem inchados (i.e., "gânglios inchados").

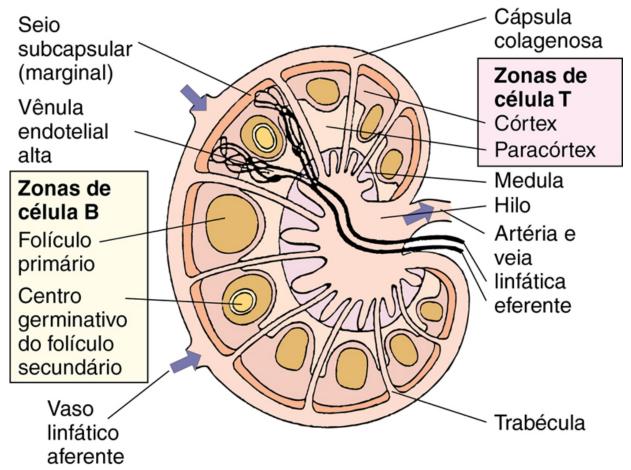


FIGURA 7-3 Organização do linfonodo. Sob a cápsula colagenosa está o seio subcapsular, que é revestido com células fagocitárias. Os linfócitos e antígenos dos espaços do tecido circundante ou dos nódulos adjacentes passam para o seio por meio do sistema linfático aferente. O córtex contém células B agrupadas em folículos primários e células B estimuladas agrupadas em folículos secundários (centros germinativos). O paracórtex contém sobretudo células T e células dendríticas (células apresentadoras de antígeno). Cada linfonodo tem seu próprio suprimento arterial e venoso. Os linfócitos provenientes da circulação entram no nódulo pelas vênulas especializadas e localizadas no paracórtex, chamadas de vênulas endoteliais altas. A medula contém tanto células T como células B, bem como a maior parte dos plasmócitos do linfonodo organizados em cordões de tecido linfoide. Os linfócitos podem deixar o nódulo apenas pelo vaso linfático eferente. (De Male D, Brostoff J, Roth DB, et al: Immunology, ed 8, Philadelphia, 2013, Elsevier.)

Os **linfonodos** são órgãos em forma de rim com 2 a 10 mm de diâmetro que filtram o fluido que passa dos espaços intercelulares para o sistema linfático, quase como uma estação de tratamento de água residual. O linfonodo é estruturado para otimizar o encontro das células da resposta inata (células dendríticas e macrófagos) com as células da resposta imune adaptativa (B e T) a fim de iniciar e expandir as respostas imunes específicas. Um linfonodo consiste em três camadas:

- 1. O córtex, camada externa que contém principalmente células B, células dendríticas foliculares e macrófagos, que estão dispostos em *folículos* e, quando ativados, em centros germinativos
- 2. O paracórtex, que contém células T e células dendríticas, as quais apresentam antígenos às células T para iniciar respostas imunes
- 3. A medula, que contém células T, B e plasmócitos produtores de anticorpos, bem como canais para o fluido da linfa

O baço é um órgão grande que atua como um linfonodo e também filtra antígenos, bactérias encapsuladas e vírus do sangue, removendo células sanguíneas envelhecidas e plaquetas (Fig. 7-4). O baço consiste em dois tipos de tecidos: a polpa branca e a polpa vermelha. A polpa branca consiste em arteríolas circundadas por células linfoides (bainha linfoide periarteriolar) nas quais as **células T** circundam a arteríola central. As **células B** estão organizadas em folículos primários não estimulados ou em folículos secundários estimulados que possuem um centro germinativo. O centro germinativo contém células de memória, macrófagos e células dendríticas foliculares. A polpa vermelha é um local de armazenamento de células sanguíneas e o local de renovação de plaquetas e eritrócitos envelhecidos. *Uma dica para memorização: Não há T no folículo ou centro germinativo, mas há Ts no paracórtex e na bainha linfoide periarteriolar.*

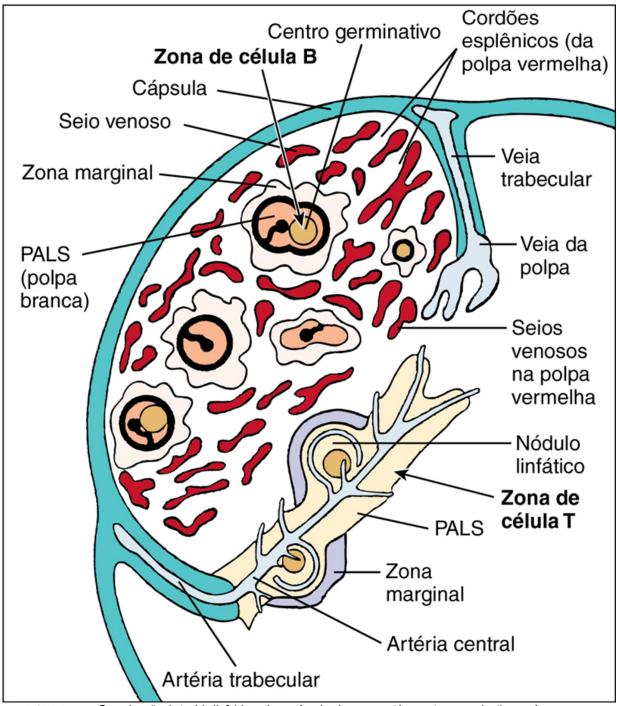


FIGURA 7-4 Organização do tecido linfoide no baço. A polpa branca contém centros germinativos e é circundada pela zona marginal, que abriga numerosos macrófagos, células apresentadoras de antígenos, células B de recirculação lenta e células *natural killer*. As células T residem na bainha linfoide periarteriolar (*PALS*). A polpa vermelha contém seios venosos separados pelos cordões esplênicos. O sangue entra nos tecidos pelas artérias trabeculares, que dão origem às artérias centrais multirramificadas. Algumas terminam na polpa branca, suprindo os centros germinativos e zonas do manto, mas a maioria desemboca dentro ou próximo das zonas marginais. (De Male D, Brostoff J, Roth DB, et al: *Immunology*, ed 8, Philadelphia, 2013, Elsevier.)

A **epiderme** (**da pele**) contém células de Langerhans, e a **derme** contém células dendríticas, linfócitos B e T, macrófagos e mastócitos. Grandes quantidades de células T de memória circulam continuamente por essas camadas da pele. Os queratinócitos da epiderme são parte do sistema inato de defesa antimicrobiana.

O MALT contém agregados de células linfoides menos estruturados (Fig. 7-5). Por exemplo, as placas de Peyer ao longo da parede intestinal possuem células especiais no epitélio (células M), que entregam os antígenos do lúmen a uma estrutura similar a um mini-linfonodo contendo células dendríticas e linfócitos em regiões definidas (T [interfolicular] e B [germinal]). As células dendríticas, células T e células B, também residem na camada de lâmina própria, imediatamente sob o epitélio. Outrora consideradas dispensáveis, as tonsilas são uma parte importante do MALT. Esses órgãos linfoepiteliais protegem contra a invasão de micróbios nas áreas oral e nasal. As amígdalas contêm um grande número de células B maduras e de memória (50% a 90% dos linfócitos) que utilizam seus anticorpos para detectar patógenos específicos e, juntamente com as células dendríticas e as células T, podem iniciar respostas imunes. O inchaço das amígdalas pode ser causado por infecção ou uma resposta à infecção.

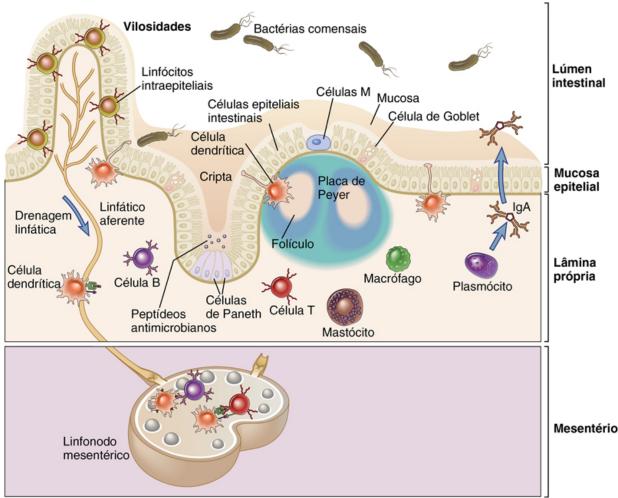


FIGURA 7-5 Células linfoides estimuladas com antígeno nas placas de Peyer (ou nos pulmões ou em outro ponto mucoso) migram via linfonodos regionais e ducto torácico para a corrente sanguínea, dali para a lâmina própria do intestino e, provavelmente, para outras superfícies mucosas. Assim, os linfócitos estimulados em uma superfície mucosa podem ser distribuídos por todo o sistema MALT (tecido linfoide associado à mucosa). *IgA*, imunoglobulina A. (Modificado de Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al: *Cellular and molecular immunology*, ed 8, Philadelphia, 2015, Elsevier.)

Leucócitos Polimorfonucleares

Os **leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos)** são células de vida curta, que constituem 50% a 70% dos leucócitos circulantes (Fig. 7-1), constituem a **defesa fagocitária** primária contra infecções bacterianas e representam o maior componente da **resposta inflamatória**. Os **neutrófilos** têm de 9 a 14 μm de diâmetro, não possuem mitocôndria, têm um citoplasma granulado em que os grânulos se coram tanto com coloração ácida quanto básica, e possuem um núcleo multilobulado. Os neutrófilos deixam o sangue e se concentram no local da infecção em resposta a fatores quimiotáticos. Durante a infecção, os neutrófilos no sangue aumentam em número e incluem suas formas precursoras. Esses precursores são denominados **bastonetes**, em contraste aos completamente diferenciados e **segmentados neutrófilos**. Em uma contagem sanguínea, o achado de um aumento e mudança nos neutrófilos é, algumas vezes, chamado de *desvio à esquerda com um aumento dos bastonetes versus segmentados*. Os neutrófilos ingerem bactérias através da fagocitose e expõem as bactérias às substancias antibacterianas e enzimas contidas nos grânulos **primários (azurófilos)** e **secundários (específicos)**. Os grânulos **azurófilos** são reservatórios para enzimas tais como mieloperoxidase, β-glicuronidase, elastase e catepsina G. Os grânulos específicos servem como reservatório para lisozima e lactoferrina. Os neutrófilos mortos liberam

uma rede antimicrobiana pegajosa composta de DNA e outras fibras, denominada **armadilha extracelular de neutrófilos** (net), e os neutrófilos mortos são o principal componente do pus.

Os **eosinófilos** são células altamente granuladas (11 a 15 µm de diâmetro) com um núcleo bilobulado que se cora com o corante ácido eosina Y. Eles também são fagocitários, móveis e granulados. Os grânulos contêm fosfatase ácida, peroxidase e proteínas eosinofílicas básicas. Os eosinófilos desempenham um papel na defesa contra **infecções parasitárias**. As proteínas eosinofílicas básicas são tóxicas para muitos parasitas. Os **mastócitos** e os **basófilos** são os granulócitos não fagocitários que liberam o conteúdo dos seus grânulos em resposta a desencadeantes inflamatórios e durante as respostas alérgicas (hipersensibilidade tipo 1).

Sistema Mononuclear Fagocitário

O sistema mononuclear fagocitário é composto por células mieloides e consiste em monócitos no sangue, macrófagos, e células dendríticas (Fig. 7-1). Os monócitos possuem de 10 a 18 µm de diâmetro, com um núcleo unilobulado em forma de feijão. Eles representam de 3% a 8% de leucócitos do sangue periférico. Os monócitos seguem os neutrófilos em direção ao tecido como um componente celular precoce da inflamação.

Os macrófagos são células fagocitárias de vida longa, que contêm lisossomos e, ao contrário dos neutrófilos, possuem mitocôndria. Os macrófagos possuem as seguintes funções básicas: (1) a fagocitose de detritos e micróbios; (2) a apresentação de antígenos a células T para expandir as respostas imunes específicas; e (3) a secreção de citocinas, tanto para manter a função do tecido normal e sua reparação (macrófagos M2) quanto para exercer ação antimicrobiana e promover a inflamação (macrófagos M1) (Fig. 7-6; também Fig. 8-3). Os macrófagos expressam receptores de superfície celular para a porção Fc da imunoglobulina (Ig) G (Fc-γ RI, Fc-γ RII, Fc-γ RIII) e para o produto C3b da cascata do complemento (CR1, CR3). Esses receptores facilitam a fagocitose de antígenos, bactérias ou vírus opsonizados por essas proteínas. Receptores Toll-like e outros receptores de reconhecimento padrão reconhecem padrões moleculares associados a patógenos e ativam respostas protetoras. Os macrófagos também expressam o antígeno MHC de classe II, o qual permite que essas células apresentem o antígeno às células T CD4 auxiliares, a fim de expandir a resposta imune. Os macrófagos secretam interleucina (IL)-1, IL-6, fator de necrose tumoral (TNG)-α, IL-12 e outras moléculas após detectarem bactérias, as quais estimulam as respostas imunes e inflamatórias, incluindo a febre. Uma citocina derivada de célula T, IFN-γ, ativa as funções inflamatórias nos macrófagos. Macrófagos ativados (M1) têm suas capacidades fagocitárias, de extermínio e de apresentação de antígenos, aumentadas.

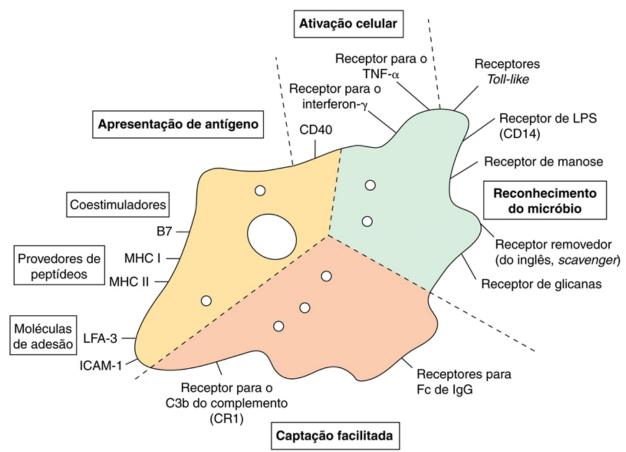


FIGURA 7-6 Estruturas da superfície do macrófago que medeiam a função celular. Receptores para componentes bacterianos, anticorpos e complemento (para opsonização) promovem ativação e fagocitose de antígeno; outros receptores promovem apresentação de antígeno e ativação de células T. A célula dendrítica compartilha muitas dessas características. *ICAM-1*, molécula-1 de adesão intercelular; *IFN-γ*, interferon-γ; *Ig*, imunoglobulina; *LFA-3*, antígeno-3 associado à função leucocitária; *LPS*, lipopolissacarídeo; *MHC*, complexo principal de histocompatibilidade I ou II; *TNF-α*, fator de necrose tumoral-α.

Os macrófagos sanguíneos, alveolares e serosos (p.ex., peritoneais) são exemplos de macrófagos "errantes" derivados de células precursoras da medula óssea. Os macrófagos residentes no tecido incluem: macrófagos alveolares nos pulmões, células de Kupffer no figado; células mesangiais intraglomerulares no rim; histiócitos no tecido conjuntivo, osteoclastos, células sinoviais e células microgliais no cérebro. Esses macrófagos são descendentes de células do saco vitelino e estão primariamente envolvidos com as funções de manutenção dos tecidos e de reparação (macrófagos M2). As formas maduras dessas células têm diferentes morfologias correspondentes à sua localização e função no tecido final e podem expressar um subconjunto de atividades macrofágicas ou de marcadores de superfície celular.

Células Dendríticas

A maioria das **células dendríticas** possuem protuberâncias, semelhantes aos tentáculos de um polvo, e são células apresentadoras de antígenos (APC) profissionais, que podem também produzir citocinas. Diferentes tipos de células dendríticas maduras e imaturas são encontrados nos tecidos e no sangue, tais como: **células de Langerhans** na pele; **células dérmicas intersticiais**; células **dendríticas esplênicas marginais**; e células dendríticas no **fígado, timo, centros germinativos dos linfonodos** e no **sangue**. **Células dendríticas plasmocitoides** têm uma aparência semelhante a plasmócitos, estão presentes no sangue e produzem grandes quantidades de IFN-α e citocinas em resposta a infecções virais e outras infecções. As células dendríticas podem ser derivadas de células-tronco ou de monócitos. As **células dendríticas imaturas** capturam e fagocitam os antígenos de forma eficiente e liberam citocinas para ativar e orientar a resposta imunológica subsequente. Após a maturação, as células dendríticas movem-se para as regiões dos linfonodos, ricas em células T, para apresentar antígenos via MHC de classe I e II. *As células dendríticas são as únicas células apresentadoras de antígenos que podem iniciar uma resposta imune com um linfócito T naïve,* e também determinam o tipo de resposta (Th1, Th2, Th17, Treg). As **células dendríticas foliculares** localizam-se em regiões de células B de linfonodos e baço, não são de origem hematopoiética e não processam antígenos, mas têm dendritos e uma superfície "pegajosa" para concentrar antígenos e exibi-los para as células B.

Linfócitos

Os linfócitos têm de 6 a 10 µm de diâmetro, o qual é menor que o dos leucócitos. Existem três classes principais de linfócitos: **células T**, **células B** e **células linfoides inatas**. Essas células possuem um núcleo grande e um citoplasma menor, agranular. Embora as células B e T sejam indistinguíveis em suas características morfológicas, elas podem ser diferenciadas

com base na sua função e nos seus marcadores de superfície (Tabela 7-5). As células linfoides que não são B ou T são denominadas **células linfoides inatas (CLIs)** e incluem as **células NK**.



Tabela 7-5

Comparação entre Células B e T

Propriedade Células T		Células B	
Origem	Medula óssea	Medula óssea	
Maturação	Timo	Equivalente à bursa: medula óssea, placas de Peyer	
Funções	CD4: Auxiliar na produção de citocina restrita ao MHC de classe II para início e promoção da resposta imune CD8: CTL, citólise restrita ao MHC de classe I NKT e T γ/δ: resposta rápida à infecção Treg: controle e supressão de célula T e outras respostas	Produção de anticorpos Apresentação de antígenos às células T	
Resposta protetora	Resolução de infecções intracelulares e fúngicas, aumento e controle das respostas imunes inatas e adaptativas	Anticorpo protege contra nova invasão, bloqueia a disseminação do agente no sangue, opsoniza etc.	
Produtos*	Citocinas, IFN-γ, fatores de crescimento, substâncias citolíticas (perforinas, granzimas)	IgM, IgD, IgG, IgA ou IgE	
Marcadores de superfície distintivos	CD2 (receptor celular de hemácia de carneiro), TCR, CD3	Anticorpos de superfície, receptores de complemento, moléculas MHC de classe II	
Subpopulações	CD4 Th0: precursor auxiliar CD4 Th1: ativa o crescimento de células B, T e NK; ativa macrófagos; respostas CTL, respostas DTH; produção de IgG CD4 Th2: ativa o crescimento de células B e T, produção de IgG, IgE e IgA CD4 Th17: inflamação Treg CD4 CD25: supressão CD8: células T citotóxicas (CTL) NKT, Τγ/δ: resposta rápida à infecção Células de memória: de vida longa, resposta anamnéstica	Células B (IgM, IgD): anticorpo, apresentação de antígeno; Células B (IgG ou IgE ou IgA): anticorpo, apresentação de antígeno; Plasmócitos: fábricas de anticorpos terminalmente diferenciadas; Células de memória: de vida longa, resposta anamnéstica	

CD, grupos de diferenciação; CTL, Linfócito citotóxico; DTH, hipersensibilidade do tipo tardia; IFN, interferon; Ig, imunoglobulina; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; NKT, célula T natural killer, TCR, receptor de célula T; Th, célula T auxiliar.

As **células** T são assim chamadas porque se desenvolvem no timo. As células T têm as duas seguintes funções principais em resposta a um antígeno estranho:

- 1. Regular, suprimir (quando necessário) e ativar respostas, imunes e inflamatórias, pelas interações célula-célula e pela liberação de citocinas.
- 2. Matar diretamente células infectadas por vírus, células estranhas (p.ex., enxertos de tecidos) e tumores pela promoção de apoptose.

As células T constituem 60% a 80% dos linfócitos do sangue periférico. Eram inicialmente distinguidas das células B com base na capacidade de se ligarem e de cercarem a si mesmas pela formação de rosetas com hemácias de carneiro, via molécula CD2. Todas as células T expressam um receptor de célula T (TCR), de ligação ao antígeno, que se assemelha a um anticorpo, mas diferente dele, e também proteínas associadas CD3 e CD2 na sua superfície celular (Fig. 7-7). As células T são divididas em três grupos principais com base no tipo de TCR e também pela expressão de duas proteínas de superfície celular, CD4 e CD8. A maioria dos linfócitos expressa TCR α/β . Células T que expressam CD4 são fundamentalmente células produtoras de citocinas que ajudam a iniciar, dirigir e regular as respostas inatas e adaptativas. As células T CD4 podem ainda ser divididas em Th0, Th1, Th2, Th17, Treg e outros subgrupos, de acordo com o espectro de citocinas que elas secretam e o tipo de resposta imune que elas promovem. As células Th1 promovem as respostas inflamatórias celulares e de anticorpos locais, enquanto as células Th2 promovem a produção de anticorpos. As células Th17 ativam a célula epitelial e inflamação impulsionada por neutrófilos e outras respostas, e as células Treg regulam a resposta imune para manter o equilíbrio e a auto-tolerância. As células T CD8 também liberam citocinas, mas são mais conhecidas pela sua capacidade de reconhecer e matar (por apoptose) células infectadas com vírus, transplantes de tecidos estranhos (aloenxertos) e células tumorais, como células T citotóxicas. As células T também produzem células de memória que expressam CD45RO. Um número variável de células T expressam o TCR γ/δ , mas não expressam CD4 ou CD8. Essas células geralmente residem na pele e na mucosa e são importantes para a imunidade inata. As células NKT são células T que compartilham características com as células NK.

^{*} Dependendo da subpopulação.

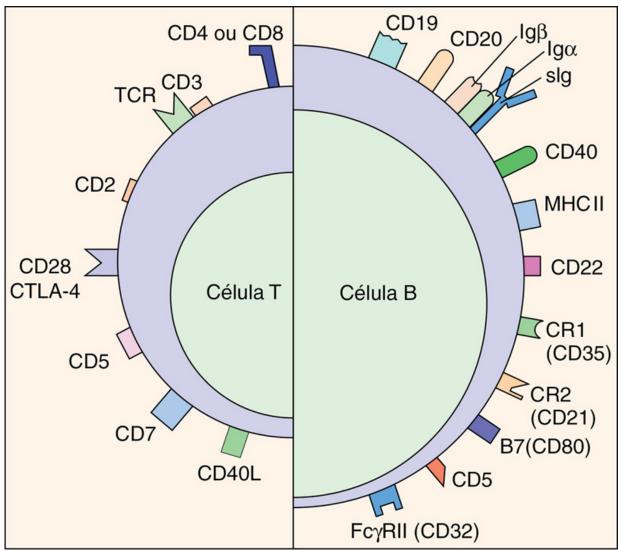


FIGURA 7-7 Marcadores de superfície das células B e T humanas.

A principal função das **células B** é **produzir anticorpos**, mas também interiorizam e processam o antígeno e o apresentam às células T, para solicitar auxílio destas últimas e ampliar a resposta imunológica. As células B podem ser identificadas pela presença de imunoglobulinas, moléculas MHC classe II, e receptores para os produtos C3b e C3d da cascata do complemento (CR1, CR2) sobre as suas superfícies celulares (Fig. 7-7). O nome das células B é derivado a partir do seu local de diferenciação, a *b*olsa de Fabricius das aves e a medula óssea (do inglês, *bone marrow*) dos mamíferos. As células B ativadas ou entram em apoptose, ou desenvolvem-se em **células de memória**, que expressam o marcador de superfície celular CD45RO e circulam até serem ativadas pelo antígeno específico, ou diferenciam-se terminalmente em plasmócitos. Os **plasmócitos** têm núcleos pequenos e um grande citoplasma para o seu trabalho como produtores de anticorpos.

As células linfoides inatas (ILCs, do inglês, innate lymphoid cells) são linfócitos não T e não B, que se assemelham às células T em algumas características e incluem as células NK. ILC produtoras de citocinas são encontradas em associação com células epiteliais no timo e no intestino. No intestino, essas células produzem citocinas que regulam a resposta da célula T e da célula epitelial à flora intestinal, facilitando a proteção antiparasitária. Erros na sua função são associados a imunopatologias, incluindo doenças autoimunes. ILC também estão envolvidas na regulação da resposta imune durante a gravidez. Os linfócitos NK grandes e granulares se assemelham às células T CD8 na função citolítica contra células infectadas por vírus e células tumorais, mas elas diferem no mecanismo de identificação da célula-alvo. As células NK também são capazes de promover morte celular dependente de anticorpo e, por isso, são também chamadas de células promotoras de citotoxicidade celular dependente de anticorpo ou células killer (ADCC ou células K, do inglês, antibody-dependent cellular cytotoxicity ou killer). Os grânulos citoplasmáticos contêm proteínas citolíticas que desencadeiam a destruição celular.

Referências Bibliográficas

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al. Cellular and molecular immunology. ed 7 Philadelphia: WB Saunders; 2011.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M. *Immunity: the immune response in infectious and inflammatory disease.* Sunderland, Mass: Sinauer Associates; 2007.

Janeway CA, Travers P, Walport M, et al. *Immunobiology: the immune system in health and disease*. ed 6 New York: Garland Science; 2004. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. *Kuby immunology*. ed 7 New York: WH Freeman; 2011.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. ed 7 Philadelphia: Elsevier; 2005.

Rosenthal KS. Are microbial symptoms "self-inflicted"? The consequences of immunopathology. Infect Dis Clin Pract. 2005;13:306–310.

Rosenthal KS. Vaccines make good immune theater: immunization as described in a three-act play. Infect Dis Clin Pract. 2006;14:35–45.

Rosenthal KS, Wilkinson JG. Flow cytometry and immunospeak. Infect Dis Clin Pract. 2007;15:183–191.

Sompayrac L. How the immune system works. ed 2 Malden, Mass: Blackwell Scientific; 2003.

Spits H, DiSanto JP. The expanding family of innate lymphoid cells: regulators and effectors of immunity and tissue remodeling. *Nat Immunol.* 2011;12:21–27.

Trends Immunol: Issues contain understandable reviews on current topics in immunology.

CAPÍTULO 8

Resposta Imune Inata



Animações para este capítulo estão disponíveis no www.evolution.com.br

As respostas inatas do hospedeiro trabalham continuamente para manter a flora normal nos seus lugares apropriados e reagir rapidamente à invasão e presença de micróbios e células inadequadas. O corpo protege-se da invasão microbiana de formas que são semelhantes às utilizadas para proteger um país da invasão. Barreiras tais como a pele, superfícies mucosas e o ácido gástrico restringem as bactérias às superfícies exteriores e lúmen do trato gastrointestinal, prevenindo a invasão pela maioria dos micróbios. Destes, os capazes de atravessar essas barreiras são bombardeados com moléculas antimicrobianas solúveis, tais como defensinas, componentes do complemento e lectinas. À medida que a infecção se expande, "tropas" de células da resposta inata, incluindo neutrófilos, células da linhagem monócito-macrófago, células dendríticas imaturas (iDCs), células de Langerhans, células dendríticas (DCs) e células *natural killer* (NK), são chamadas à ação sob instruções de citocinas e quimiocinas. Muitas vezes, essas respostas inatas são suficientes para controlar a infecção. Mais tarde, uma resposta antígeno-específica mais sofisticada suporta, melhora e controla a resposta inata (Quadro 8-1).



Quadro 8-1 Respostas Inatas do Hospedeiro

Constitutivas

Barreiras: pele, ácido gástrico, bile, muco

Temperatura corporal

Peptídeos antimicrobianos: defensinas, catelicidinas

Enzimas: lisozima

Lactoferrina, transferrina, hepcidina

Complemento

Respostas das células epiteliais

Recrutamento

Complemento C3a, C5a

Quimiocinas liberadas pelo epitélio e por macrófagos

Células Responsivas ao Patógeno

Neutrófilos

Macrófagos

Células de Langerhans/células dendríticas

Células T γ/δ

Células NK, NKT

Citocinas de Fase Aguda/Inflamatórias

IL-1: febre, diapedese, inflamação

Fator de necrose tumoral-α: febre, diapedese, inflamação, permeabilidade vascular, remodelação tecidual, metabolismo, manutenção da ativação dos macrófagos, caquexia

IL-6: síntese de proteínas de fase aguda pelo fígado, ativação de linfócitos

Outras Citocinas e Ativadores

IL-12: promove a resposta Th1 e ativa as células NK

IL-23: promove resposta Th17 a partir de células de memória

Interferons tipo 1: efeito antiviral, febre, promoção da resposta de células T CD8

Interferon-γ (a partir de células NK, NKT): ativação de macrófagos e células dendríticas

Mediadores lipídicos (prostaglandinas e leucotrienos)

Proteínas de Fase Aguda Sintetizadas no Fígado

Proteína C-reativa, lectina de ligação à manose, fibrinogênio, complemento

IL, Interleucina; NK, natural killer.

As proteções inatas são ativadas pelo contato direto com estruturas repetitivas do genoma, expressas na superfície microbiana, denominadas padrões moleculares associados a patógeno (PAMPs, do inglês, pathogen-associated molecular patterns) e por moléculas liberadas após dano celular, denominadas padrões moleculares associados a danos celulares (DAMPs, do inglês, damage-associated molecular patterns). Em contraste, as respostas antígeno-específicas são ativadas por pequenas estruturas denominadas epítopos.

Barreiras contra a Infecção

A pele e as membranas mucosas servem como barreiras para a maioria dos agentes infecciosos (Fig. 8-1), existindo poucas exceções (p.ex., papilomavírus e dermatófitos [fungos "amantes da pele"]). Os ácidos graxos livres produzidos nas glândulas sebáceas e por organismos na superfície da pele, o ácido lático da transpiração, o pH baixo e o ambiente relativamente seco da pele tornam as condições desfavoráveis para a sobrevivência da maioria dos microrganismos.

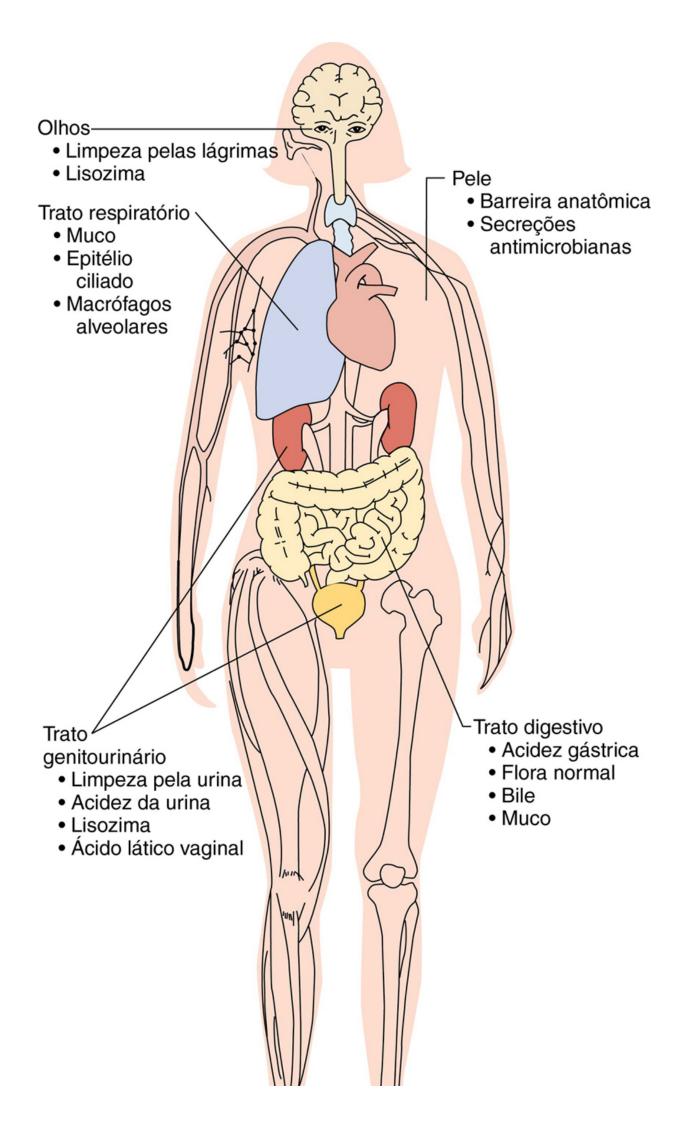




FIGURA 8-1 Barreiras que agem como defesa no corpo humano.

O epitélio da mucosa que reveste os orifícios corporais é protegido por secreções mucosas e cílios. No trato respiratório superior, grandes partículas transportadas pelo ar ficam presas no muco, que é continuamente transportado em direção à boca por células epiteliais ciliadas. Partículas pequenas (0,05 a 3 µm, o tamanho de vírus ou bactérias) que atingem os alvéolos são fagocitadas por macrófagos e eliminadas das vias aéreas. Algumas bactérias e vírus (p.ex., Bordetella pertussis e vírus influenza), fumaça de cigarro ou outros poluentes podem interferir nesse mecanismo de limpeza por danificar as células epiteliais ciliadas, tornando o paciente suscetível à pneumonia bacteriana secundária. Substâncias antimicrobianas (peptídeos catiônicos [defensinas], lisozima e lactoferrina) encontradas nas secreções de superfícies mucosas (p.ex., lágrimas, muco e saliva) também oferecem proteção. A lisozima induz a lise de bactérias por clivagem de ligações polissacarídicas da estrutura de peptidoglicano presente nas bactérias Gram-positivas. A lactoferrina, uma proteína de ligação ao ferro, priva os microrganismos do ferro livre necessário para o seu crescimento (Tabela 8-1).



Tabela 8-1

Mediadores Solúveis da Resposta Inata

Fator	Função	Fonte	
Lisozima	Catalisa a hidrólise do peptideoglicano bacteriano	Lágrimas, saliva, secreções nasais, fluidos corporais, grânulos lisossômicos	
Lactoferrina e transferrina	Liga o ferro e compete com os microrganismos por este íon	Grânulos específicos de PMN	
Lactoperoxidase	Inibidora para muitos microrganismos	Leite e saliva	
β-Lisina	Efetiva principalmente contra bactérias Gram-positivas	Soro normal e trombócitos	
Fatores quimiotáticos	Induz a migração dirigida de PMN, monócitos e outras células	Complemento e quimiocinas	
Properdina	Promove a ativação do complemento na ausência do complexo antígeno-anticorpo	Plasma normal	
Lectinas Ligam-se a carboidratos para promover a fagocitose microbiana		Plasma normal	
Peptídeos catiônicos	Rompem membranas e bloqueiam atividades de transporte celular	Grânulos de polimorfonucleares, células epiteliais etc. (defensinas etc.)	

PMN, Neutrófilos polimorfonucleares (leucócitos).

O **ambiente ácido** do estômago, bexiga e rins, bem como a bile presente nos intestinos, inativa muitos vírus e bactérias. O **fluxo urinário** também limita o estabelecimento da infecção.

A temperatura do corpo, em especial a **febre**, limita ou impede o crescimento de vários microrganismos, sobretudo os vírus. Além disso, a resposta imune é mais eficiente a temperaturas elevadas.

Componentes Solúveis da Resposta Imune Inata

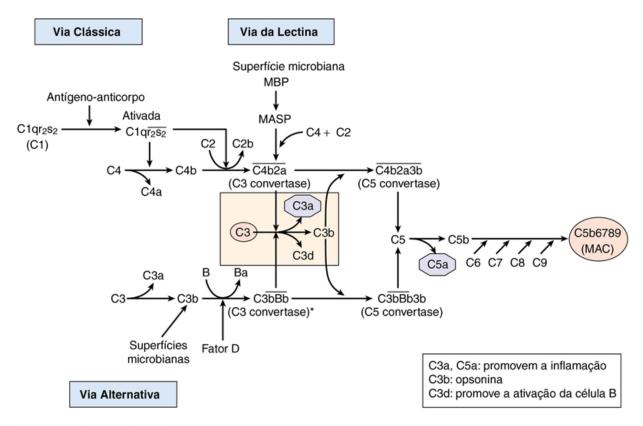
Peptídeos Antimicrobianos e Quelantes

As defensinas e catelicidinas são peptídeos produzidos por neutrófilos, células epiteliais e outras células e são tóxicas para muitos microrganismos. As **defensinas** são pequenos peptídeos catiônicos (≈ 30 aminoácidos) que podem romper as membranas, matando bactérias e fungos e inativando vírus. Quando secretadas pelas células de Paneth presentes no intestino, limitam e regulam as bactérias que vivem no lúmen. A produção de defensinas pode ser constitutiva ou estimulada por produtos microbianos ou citocinas, incluindo a interleucina-17 (IL-17). Já as catelicidinas são normalmente clivadas para produzir peptídeos microbicidas.

Proteínas ligantes de ferro (p.ex., lactoferrina, transferrina, ferritina) ou de zinco (p.ex., calprotectina) sequestram esses íons essenciais para evitar o crescimento de bactérias e leveduras. Infelizmente, muitos patógenos desenvolveram meios alternativos para adquirir esses íons.

Complemento

O sistema complemento é um alarme e uma arma contra infecções, e é especialmente importante contra infecções bacterianas. Ele é ativado diretamente por bactérias e produtos bacterianos (via alternativa ou via properdina), pela ligação da lectina a açúcares na superfície bacteriana ou fúngica (proteína [lectina] de ligação à manose), ou ainda por complexos antígeno-anticorpo (via clássica) (Fig. 8-2; Animação 8-1). As três vias de ativação do complemento convergem para o ponto de junção comum, a ativação do componente C3. A ativação por qualquer via inicia uma cascata de eventos proteolíticos que clivam as proteínas em subunidades "a", "b" e outras. As subunidades a (C3a, C5a) atraem as células fagocitárias e inflamatórias ao local (fatores quimiotáticos), permitem o acesso às moléculas solúveis e células por aumentarem a permeabilidade vascular (fatores anafiláticos C3a, C4a, C5a) e ativam respostas. As subunidades b são maiores e ligam-se ao agente para promover a sua fagocitose (opsonização) e eliminação. Essas subunidades também produzem canais moleculares capazes de matar diretamente o agente infeccioso.



*Estabilizada pela properdina.

FIGURA 8-2 Vias clássica, da lectina e alternativa do complemento. Apesar de diferentes ativadores, as três vias convergem para a clivagem de C3 e C5 para proporcionar quimioatrativos, anafilotoxinas (C3a, C5a), uma opsonina (C3b) que adere à membrana, um ativador de células B (C3d) e para iniciar o complexo de ataque à membrana (MAC) que mata as células. A fração C9 assemelha-se à perforina (células natural killer e células T citotóxicas) para promover apoptose na célula-alvo. MASP, serina-proteose associada à MBP; MBP, lectina de ligação à manose. (Adaptado de Rosenthal KS, Tan M: Rapid review microbiology and immunology, ed 3, St Louis, 2010, Mosby.)

Via Alternativa

A via alternativa pode ser ativada antes do estabelecimento de uma resposta imune à bactéria infectante, pois não depende de anticorpos e não envolve os primeiros componentes do complemento (C1, C2 e C4). O C3 é clivado de modo espontâneo no soro e pode ligar-se covalentemente às superfícies bacterianas. O *fator B da properdina* liga-se ao C3b, e o *fator D da properdina* cliva o *fator B* no complexo para gerar o *fragmento ativo Bb*, que permanece ligado ao *C3b (unidade de ativação)*. A cascata do complemento continua de maneira análoga à da via clássica.

Via da Lectina

A via da lectina é um mecanismo de defesa contra infecções bacterianas e fúngicas independente do anticorpo. A **lectina de ligação à manose** é uma grande proteína sérica que se liga à manose não reduzida, à fucose e à glucosamina nas superfícies bacterianas, fúngicas e de outras células. A lectina de ligação à manose é semelhante ao componente C1q da via clássica e o substitui. Já na ligação às superfícies bacterianas, essa proteína ativa a clivagem da serina-protease associada à lectina de ligação à manose, que cliva os componentes C4 e C2 para produzir a C3 convertase, o ponto de junção da cascata do complemento.

Via Clássica

A via clássica da cascata do complemento é iniciada pela ligação do primeiro componente, C1, à porção Fc dos anticorpos (imunoglobulinas [Ig]G ou IgM, mas não IgA ou IgE) que estão ligados aos antígenos de superfície celular ou presentes em um imunocomplexo formado com antígenos solúveis. O C1 consiste em um complexo de três proteínas distintas designadas C1q, C1r e C1s (Fig. 8-2). O C1q liga-se à porção Fc, levando à ativação da atividade proteolítica de C1r e C1s. O C1s cliva então o C4 em C4a e C4b, e o C2 em C2a e C2b. A união de C4b e C2a produz C4b2a, uma enzima conhecida como C3 convertase. Esse complexo liga-se à membrana celular e cliva C3 nos fragmentos C3a e C3b. A proteína C3b tem uma única ligação tioéster que a ligará covalentemente à superfície celular ou será hidrolisada. A C3 convertase amplifica a resposta por clivar muitas moléculas C3. A interação de C3b com C4b2a ligada à membrana celular produz C4b3b2a, que é denominada C5 convertase. Tal unidade de ativação divide C5 nos fragmentos C5a e C5b, representando mais um passo de amplificação na cascata.

Atividades Biológicas dos Componentes do Complemento

Os produtos de clivagem dos componentes C3 e C5 são essenciais para as respostas antibacterianas, aumentam a eliminação do agente infeccioso, e promovem a inflamação. Os fragmentos do complemento C3a, C4a e C5a funcionam como anafilatoxinas potentes que estimulam os mastócitos para liberar histamina e fator de necrose tumoral (TNF)-α, que aumenta a permeabilidade vascular e a contração do músculo liso. O C3a e C5a também atuam como substâncias atrativas (fatores quimiotáticos) para os neutrófilos e macrófagos, facilitando a sua saída do capilar próximo da infecção. Essas proteínas são potentes promotoras de reações inflamatórias. O C3b é uma opsonina que promove a eliminação de micróbios pela sua ligação direta a eles, tornando-os mais reconhecíveis pelas células fagocitárias, tais como neutrófilos e macrófagos, que possuem receptores para o C3b. O C3b pode ser ainda clivado para gerar C3d, que é um ativador de linfócitos B. Para as bactérias Gram-positivas e a maioria das outras infecções bacterianas, essas respostas exercem a principal função antimicrobiana do sistema do complemento.

O sistema complemento também interage com a cascata de coagulação. Fatores de coagulação ativados podem clivar C5a, e uma protease da via da lectina pode clivar a protrombina, resultando na produção de fibrina e na ativação da cascata de coagulação.

Complexo de Ataque à Membrana

O estágio terminal da via clássica envolve a criação do **complexo de ataque à membrana (MAC**, do inglês, *membrane attack complex*), também chamado de **unidade lítica** (Fig. 8-2). As cinco proteínas terminais do sistema complemento (C5 até C9) associam-se em um MAC nas membranas das células-alvo, mediando a lesão. A formação do MAC inicia-se com a clivagem do C5 em fragmentos C5a e C5b. Um complexo constituído por (C5b, 6,7,8)₁(C9)_n promove uma perfuração na membrana, levando à apoptose ou à lise hipotônica das células. As bactérias *Neisseria* são bastante sensíveis a esse modo de lise, enquanto as bactérias Gram-positivas são relativamente insensíveis. O peptidoglicano de bactérias Gram-positivas limita o acesso dos componentes do complemento à membrana plasmática alvo, a menos que degradado pela lisozima. Ao contrário de outras bactérias Gram-negativas, a membrana externa das bactérias *Neisseria* contém lipo-oligossacarídeo, que, por não possuir a cadeia lateral de antígenos O, permite o acesso do complemento à superfície da membrana. O componente C9 é semelhante à perforina, proteína produzida por células T citolíticas e células NK.

Regulação da Ativação do Complemento

Os seres humanos têm vários mecanismos para impedir a geração da C3 convertase com o objetivo de evitar a ativação inadequada da cascata do complemento. Estes incluem o inibidor de C1, a proteína de ligação a C4, o fator H, o fator I e as proteínas de superfície celular, que agem como fator de aceleração do decaimento (DAF, do inglês, *decay-accelerating factor*) e proteína cofator de membrana. Além disso, o CD59 (protectina) impede a formação do MAC. Na maioria dos agentes infecciosos, esses mecanismos de proteção estão ausentes, o que os torna suscetíveis às ações do complemento. Em humanos, uma deficiência genética desses sistemas de proteção pode resultar em doença.

Interferons

Os interferons são pequenas proteínas (como as citocinas) que interferem na replicação viral, mas também possuem efeitos sistêmicos (para descrição mais detalhada, veja o Cap. 10). Os interferons tipo I incluem o α e o β , enquanto o interferon- γ é considerado um interferon tipo II. Os interferons tipo I estão ligados principalmente a uma resposta antiviral precoce desencadeada por intermediários de RNA de fita dupla formados durante a replicação viral e outras estruturas que se ligam a receptores *Toll-like* (TLR), RIG-1 (gene 1 induzível por ácido retinoico) e receptores PAMP (PAMPRs). As DCs plasmocitoides produzem grandes quantidades de IFN- α em resposta a uma infecção viral, em especial durante a viremia, mas outras células também podem produzir IFN- α . O IFN- β é produzido sobretudo por fibroblastos. Os interferons tipo I promovem a transcrição de proteínas antivirais em células ativadas pela infecção viral. Eles também ativam respostas sistêmicas, incluindo febre e aumento da ativação das células T. Os interferons tipo I serão discutidos mais adiante quando a resposta às infecções virais for abordada.

O IFN- γ é um interferon tipo II e difere em propriedades bioquímicas e biológicas dos interferons tipo I. O IFN- γ é uma citocina produzida principalmente por células NK e T como parte de respostas imunes Th1. O IFN- γ age pela ativação de macrófagos e células mieloides. O IFN- γ será discutido mais adiante quando a resposta imune por células T for abordada.

Componentes Celulares da Resposta Imune Inata

Neutrófilos

Os neutrófilos desempenham um papel importante na proteção contra infecções bacterianas e fúngicas, mas têm um papel menor nas infecções virais. A superfície dos neutrófilos possui receptores que se ligam a microrganismos, tais como lectinas e receptores *scavenger* (do inglês, *scavenger* = animal necrófago ou catador/varredor), além de receptores para opsoninas, direcionados para a porção Fc das imunoglobulinas ou para o fragmento C3b) ligadas à superfície microbiana. Esses receptores promovem a fagocitose do microrganismo opsonizado e a sua subsequente morte, o que será descrito posteriormente. Os neutrófilos possuem muitos grânulos que contêm proteínas e substâncias antimicrobianas. Essas células são totalmente diferenciadas, permanecem menos de três dias ativas no sangue periférico e morrem rapidamente no tecido, o que leva à formação de pus no local da infecção.

Mastócitos, Basófilos, Eosinófilos

Os mastócitos, basófilos, e eosinófilos têm grânulos citoplasmáticos contendo substâncias antimicrobianas e mediadores de inflamação. Os mastócitos estão presentes na pele, tecido mucoepitelial e ao longo dos pequenos vasos sanguíneos e nervos. Os basófilos são como os mastócitos, mas circulam no sangue, e seus grânulos se coram com corantes básicos. Os mastócitos e basófilos ligam-se a IgE, complemento e produtos microbianos e liberam histamina e citocinas, como parte de respostas alérgicas e inflamatórias. Os eosinófilos circulam no sangue; seus grânulos se coram com corantes ácidos (p.ex., eosina), e são importantes nas respostas antiparasitárias.

Células da Linhagem Monócito-Macrófago

Os macrófagos podem ter origem a partir dos monócitos derivados da medula óssea ou a partir do saco vitelino embrionário. Os últimos residem em tecidos, tais como as células de Kupffer no fígado. Como os neutrófilos, os macrófagos são fagócitos, mas ao contrário dos neutrófilos, eles têm vida longa, podem dividir-se, apresentar peptídeos antigênicos às células T CD4 via moléculas MHC II e devem ser ativados para matar de forma eficiente as bactérias fagocitadas.

Os principais papéis dos macrófagos teciduais são a remoção de *debris* e a promoção da reparação e remodelação tecidual (**macrófagos M2**). Às vezes chamados de macrófagos alternativamente ativados, essas células podem ser ativadas por citocinas do tipo Th2, IL-4 e IL-13, para suportar respostas antiparasitárias. Os macrófagos M2 também estão presentes em tumores e intensificam o crescimento de células tumorais e promovem a angiogênese (Fig. 8-3).

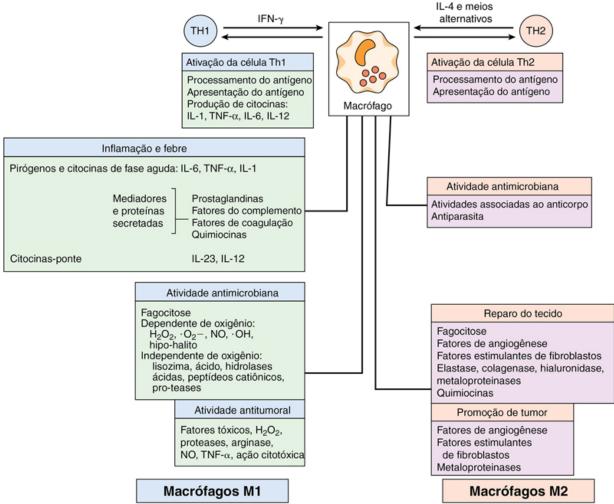


FIGURA 8-3 As várias funções dos macrófagos e dos membros da família de macrófagos. Os macrófagos M2 mantêm o *status quo* e facilitam a cicatrização de feridas pela remoção de *debris* e promovem a angiogênese e reparação tecidual. Os macrófagos M1 promovem a destruição antimicrobiana e inflamação. H_2O_2 , Peróxido de

hidrogênio; *IFN-γ*, interferon- γ ; *IL*, interleucina; *NO*, óxido nítrico; O^- , radical oxigênio; *OH*, radical hidroxila, *Th*, T auxiliares (células), (do inglês, *T helper*), *TNF-α*, fator de necrose tumoral- α .

A fim de promoverem respostas inflamatórias e serem capazes de matar bactérias fagocitadas, os macrófagos são ativados pelo IFN-γ (ativação clássica) produzido pelas células NK e células T CD4 e CD8, como parte da resposta Th1 (macrófagos M1). Os macrófagos M1 ativados produzem enzimas e outras moléculas para promover a função antimicrobiana (Quadro 8-2) e intensificar as reações inflamatórias locais, pela produção de quimiocinas para atraírem neutrófilos, iDCs, células NK, e células T ativadas ao local da infecção, e pela produção de citocinas de fase aguda (IL-1, TNF-α, IL-6), para amplificar a resposta. Os macrófagos obtêm auxílio pela apresentação do antígeno às células T, que produzem IFN-γ enquanto o antígeno estiver presente. No caso de uma infecção por micobactérias não resolvida, a estimulação contínua (crônica) de macrófagos pelas células T promove a fusão dos macrófagos, originando células gigantes multinucleadas e macrófagos grandes chamados células epitelioides, que circundam o local da infecção e formam um granuloma.



Quadro 8-2 As Várias Funções dos Macrófagos

Status Quo ("Tempo de Paz"): Macrófagos M2

Fagocitose e degradação de debris

Produção de enzimas e fatores de crescimento e reparação tecidual

Produção de fatores angiogênicos

Durante a infecção e inflamação ("Em Guerra"): Macrófagos M1 (ativados por PAMPs, TNF- α e IFN- γ)

Fagocitose e ações antimicrobianas oxigênio-dependentes e -independentes

Citocinas de fase aguda: IL-6, TNF- α e IL-1 (pirógenos endógenos)

Outras citocinas: IL-12, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IFN- α

Metabólitos do ácido araquidônico

Prostaglandinas, tromboxano, leucotrienos

Enzimas, componentes do complemento, fatores de coagulação

G-CSF, fator estimulante de colônias de granulócitos; *GM-CSF*, fator estimulante de colônias de granulócitos-macrófagos; *IFN-\alpha*, interferon- α ; *IL*, interleucina; *M-CSF*, fator estimulante de colônias de macrófagos; *TNF-\alpha*, fator de necrose tumoral- α .

Células Imaturas Dendríticas (iDCs) e Células Dendríticas

As DCs atuam como uma ponte entre a resposta inata e a resposta imune adaptativa. O tipo de citocinas que produzem determina a natureza da resposta das células T (*dendritic cells direct the T cells as to what to tell others cells to do*). Os monócitos e as células mieloides precursoras de DCs circulam no sangue e, em seguida, diferenciam-se em iDCs nos tecidos e órgãos linfoides. As **iDCs** são células fagocitárias que, sob ativação por sinais de alarme, liberam um aviso precoce mediado por citocina e então amadurecem em DCs. Essas células expressam diferentes combinações de sensores de alarme, que podem detectar tanto trauma tecidual (adenosina trifosfato [ATP], adenosina, espécies reativas de oxigênio [ROS], proteínas de choque térmico) como infecção, incluindo os **receptores** *Toll-like* e outros receptores (que serão vistos mais tarde). As **DCs maduras** são as células apresentadoras de antígeno, definitivas ou profissionais, as únicas células apresentadoras de antígenos que podem iniciar uma resposta de células T antígeno-específica (Quadro 8-3). As **células de Langerhans** são um tipo de iDC que permanece na epiderme da pele até que sejam ativadas e, em seguida, transformem-se em DCs maduras.



Quadro 8-3 Células Dendríticas (DCs)

Mieloides e linfoides

Morfologia: semelhante a um polvo (ramificada)

Atividades

DCs Imaturas

No sangue e nos tecidos

Sensores de perigo, fagocitose, produção de citocinas, processamento de antígeno

DCs Maduras

Únicas células que podem iniciar uma nova resposta de células T

Processam proteínas antigênicas em peptídeos

Expressão aumentada de moléculas para apresentação antigênica

MHC I-peptídeo: células T CD8 CD1-glicolipídios: células T CD8 MHC II-peptídeo: células T CD4 Moléculas Coestimuladoras B7-1 e B7-2

Produzem citocinas para iniciar e dirigir a resposta T auxiliar

DCs Foliculares

Em áreas de células B de tecidos linfoides

Expressam receptores pegajosos para exibir antígenos às células B (receptores para Fc e frações do complemento CR1, CR2 e CR3, ausência de MHC II)

MHC, complexo principal de histocompatibilidade.

Células Natural Killer, Células Τ γ/δ e Células NKT

As células NK são células linfoides inatas (ILC, do inglês, innate lymphoid cells) que proporcionam uma resposta celular precoce à infecção viral. Elas também têm atividade antitumoral e amplificam reações inflamatórias após uma infecção bacteriana. As células NK são também responsáveis pela citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC, do inglês, antibody-dependent cellular cytotoxicity), mecanismo em que elas se ligam e matam as células revestidas com anticorpos. As células NK são grandes linfócitos granulares (LGL) que compartilham muitas características com as células T, exceto o mecanismo de reconhecimento de célula-alvo. As células NK não expressam o receptor de células T (TCR) ou CD3 e não produzem IL-2. Elas não reconhecem um antígeno especificamente e não requerem a apresentação de antígenos por moléculas de MHC. O funcionamento das células NK não envolve memória ou requer sensibilização, e não é intensificado por imunização específica.

As células NK são ativadas por (1) IFN- α e IFN- β (produzidos precocemente em resposta a infecções virais e outras infecções), (2) TNF- α , (3) IL-12, IL-15 e IL-18 (produzidas por pré-DC e macrófagos ativados) e (4) IL-2 (produzida pelas células T CD4 Th1). As células NK expressam muitos marcadores de superfície celular também expressos pelas células T (p.ex., CD2, CD7, receptor para IL-2 [IL-2R] e **FasL** [**ligante de Fas**]). Além disso, essas células expressam também o **receptor para Fc de IgG** (**CD16**), receptores para complemento envolvidos na ADCC, receptores ativadores e inibidores específicos de NK (incluindo os receptores de NK tipo-imunoglobulina[KIR]). As células NK ativadas produzem IFN- γ , IL-1 e o fator estimulante de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF). Os grânulos de uma célula NK

contêm **perforina** (uma proteína formadora de poros) e **granzimas** (esterases), que também estão presentes nos grânulos do linfócito T citotóxico CD8 (CTL). Essas moléculas promovem a morte das células-alvo.

A célula NK detecta cada célula como um alvo potencial, especialmente aquelas que se apresentam em estresse, e vai matá-las a menos que receba um sinal inibidor por parte da célula-alvo. As células NK ligam-se aos carboidratos e proteínas de superfície de uma célula em estresse. A interação de um número suficiente de moléculas MHC de classe I com receptores inibidores s KIR funciona como uma senha secreta, que indica que tudo está normal com a célula-alvo e, para prevenir a morte desta pela célula NK, ativa um sinal inibidor. Células tumorais e células infectadas por vírus expressam "receptores relacionados com o estresse" que em geral são deficientes em moléculas MHC I e se tornam alvos de células NK. A ligação de células NK a células-alvo revestidas com anticorpos (ADCC) causa também a morte do alvo, mas esse mecanismo não é controlado por um sinal inibidor. Os mecanismos de destruição da célula-alvo pelas células NK são semelhantes aos das células T citotóxicas CD8. Uma sinapse imunológica (bolsa) é formada entre as células NK e seu alvo, e perforina e granzimas são liberadas para provocar a ruptura da célula-alvo e induzir a apoptose. Além disso, a interação do FasL na célula NK com a proteína Fas na célula-alvo também pode induzir apoptose.

Outras ILCs se assemelham a células T CD4 e produzem citocinas para regular respostas epiteliais e linfocitárias. As ILCs presentes ao longo do interior do epitélio intestinal produzem citocinas para regular a produção de defensinas pelas células epiteliais, bem como as respostas de células T a microrganismos da flora microbiana intestinal, e também promovem proteção contra parasitas (vermes) intestinais. Erros em sua função estão associados a doenças inflamatórias intestinais.

As **células NKT** e as **células T** γ/δ residem no tecido e no sangue e diferem de outras células T porque possuem um repertório limitado de receptores de células T. Ao contrário de outras células T, células NKT e T γ/δ podem reagir a antígenos não peptídicos, incluindo glicolipídios bacterianos (micobactérias) e metabólitos de aminas fosforilados, de algumas bactérias (*Escherichia coli*, micobactérias), mas não de outras (estreptococos, estafilococos). Essas células T e células NK produzem IFN- γ , que ativa macrófagos e DCs, reforçando o ciclo de citocinas de proteção Th1 e reações inflamatórias celulares locais. As células NKT também expressam receptores de células NK.

Ativação das Respostas Celulares Inatas

As células da resposta inata são ativadas por citocinas, quimiocinas e pela interação direta com micróbios e componentes microbianos. Tais células expressam diferentes combinações de sensores de perigo e danos, provindos de micróbios ou trauma celular, incluindo a família de proteínas TLR, bem como outros receptores. Os TLRs incluem, pelo menos, 10 diferentes proteínas de superfície celular e proteínas intracelulares que se ligam a estruturas repetitivas, formando **padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs)** (Fig. 8-4 e Tabela 8-2). Esses padrões estão presentes na endotoxina do lipopolissacarídeo (LPS), no ácido lipoteicoico, nos glicanos fúngicos, nas unidades não metiladas de citosina-guanosina do DNA (oligodesoxinucleotídeos CpG [ODNs]) comumente encontradas em bactérias, no RNA de fita dupla produzido durante a replicação de alguns vírus e em outras moléculas. Sensores citoplasmáticos de peptideoglicanos bacterianos incluem a proteína 1 com domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos (NOD1, do inglês, *nucleotide-binding oligomerization domain protein 1*), NOD2 e criopirina. Para os ácidos nucleicos, esses sensores incluem RIG-1, gene 5 associado à diferenciação de melanoma (MDA5, do inglês, *melanoma differentiation—associated gene 5*) etc. A ligação de PAMPs aos TLRs e a outros **PAMPRs** ativa proteínas adaptadoras que desencadeiam cascatas de proteínas quinases e outras respostas que resultam na ativação da célula para produção de citocinas específicas. Essas citocinas podem incluir IL-1, TNF-α, IL-6, IFN-α e -β e várias quimiocinas.

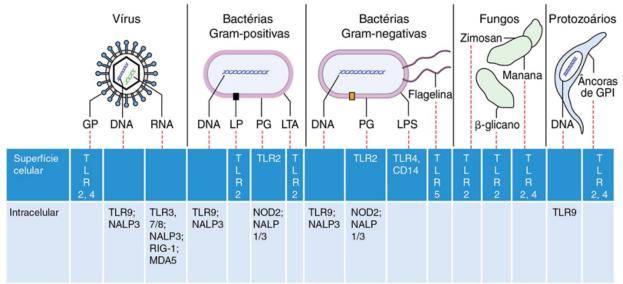


FIGURA 8-4 Reconhecimento de padrões moleculares associados a patógeno. Estruturas microbianas, RNA e DNA se ligam a receptores específicos na superfície da célula, em vesículas ou no citoplasma para ativar as respostas inatas. FL, Flagelina; GP, glicoproteínas; GPI, proteínas ancoradoras a fosfatidilinositol-glicano; LP, lipoproteínas; LPS, lipopolissacarídeo; LTA, ácido lipoteicoico; MDA5, gene 5 associado à diferenciação de melanoma; NALP3, proteína-3 contendo um domínio "nacht", uma porção C-terminal rica em repetições de leucina e domínio pirina; NOD2, proteína 2 com domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos; PG, peptideoglicano; RIG-1, gene 1 induzível por ácido retinoico; TLR9, receptor Toll-like 9. (Modificado de Mogensen TH: Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses, Clin Microbiol Rev 22:240 – 273, 2009.)



Receptores para Padrões de Patógenos

Receptor*	Ativadores Microbianos	Ligante
Superfície Celular		
TLR1	Bactérias, micobactéria, Neisseria meningitidis	Lipopeptídeos Fatores solúveis
TLR2	Bactérias Fungos Células	LTA, LPS, PG etc. Zimosan Células necróticas
TLR4	Bactérias, parasitas, vírus, proteínas do hospedeiro	LPS, mananas fúngicas, glicoproteínas virais, fosfolipídios parasitários, proteínas de choque térmico do hospedeiro, LDL
TLR5	Bactérias	Flagelina
TLR6	Bactérias e fungos	LTA, lipopeptídeos, zimosan
Lectinas	Bactérias, fungos e vírus	Carboidratos específicos (p.ex., manose)
Receptor de <i>N</i> -formil metionina	Bactérias	Proteínas bacterianas
Endossomo		
TLR3	Vírus	RNA de fita dupla
TLR7	Vírus	RNA de fita simples e imidazoquinolinas
TLR8	Vírus	RNA de fita simples e imidazoquinolinas
TLR9	Vírus e bactérias	DNA não metilado (CpG)
Citoplasma		
NOD1, NOD2, NALP3	Bactérias	Peptideoglicano
Criopirina	Bactérias	Peptideoglicano
RIG-1	Vírus	RNA
MDA5	Vírus	RNA
DAI	Vírus, DNA citoplasmático	DNA

Ativadores: *DAI*, ativador de fatores reguladores de interferon DNA-dependente; *DNA*, ácido desoxirribonucleico; *dsRNA*, RNA de fita dupla; *LDL*, lipoproteína de baixa densidade; *LPS*, lipopolissacarídeo; *LTA*, ácido lipoteicoico; *MDA5*, gene 5 associado à diferenciação de melanoma; *NALP3*, proteína-3 contendo um domínio "nacht", uma porção C-terminal rica em repetições de leucina e domínio pirina; *NOD*, proteína com domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos; *PG*, peptideoglicano; *RIG-1*, gene 1 induzível por ácido retinoico; *TLR*, receptor *Toll-like*.

Em resposta a PAMPs e outros estímulos, as células epiteliais, DCs, macrófagos e outras células podem formar um **inflamassoma** (Fig. 8-5). Esse complexo multiproteico é ativado por várias das proteínas adaptadoras induzidas em resposta a PAMPRs ou danos teciduais. As proteases liberadas da ruptura de fagossomos e lisossomos que internalizam cristais de ácido úrico (gota) ou asbesto (amianto) também podem ativar a formação do inflamassoma. O inflamassoma ativa a protease caspase-1, que então cliva, ativa e promove a liberação de IL-1β e IL-18. Essas citocinas tivadas promovem a inflamação local. O inflamassoma ativado também pode iniciar morte celular semelhante à apoptose em células infectadas com bactérias intracelulares.

^{*} Informações sobre receptores *Toll-like* baseadas em Takeda A, Kaisho T, Akira S: Toll-like receptors, *Annu Rev Immunol* 21:335–376, 2003; e Akira S, Takeda K: Toll-like receptor signalling, *Nat Rev Immunol* 4:499–511, 2003.

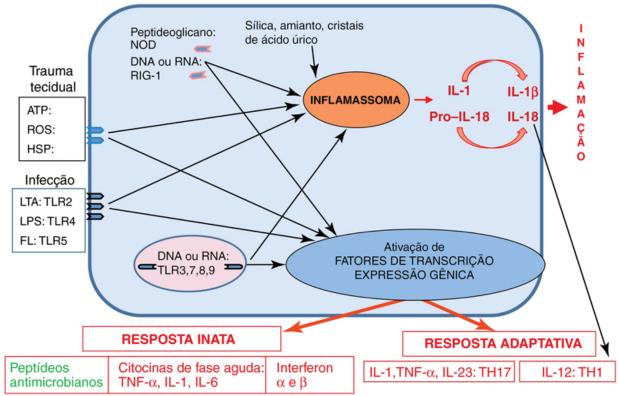
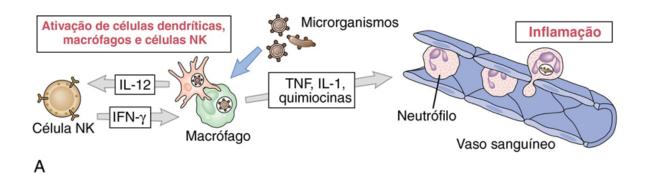


FIGURA 8-5 Indução de respostas inflamatórias. Os receptores para os padrões moleculares associados a patógenos e receptores de padrões moleculares associados a danos na superfície da célula, em vesículas e no citoplasma (1) ativam sinal em cascatas que (2) produzem proteínas adaptadoras que (3) ativam respostas inflamatórias locais. As proteínas adaptadoras iniciam a formação do inflamassoma e também acionam a transcrição de citocinas. As citocinas ativam a resposta inata e promovem respostas antígeno-específicas. Além disso, materiais cristalinos lisam lisossomos, liberando proteases que clivam os precursores para iniciar a formação e ativação do inflamassoma e promoção da inflamação. *ATP*, trifosfato de adenosina; *FL*, flagelina; *HSP*, proteína de choque térmico; *IL*, interleucina; *LPS*, lipopolissacarídeo; *LTA*, ácido lipoteicoico; *NOD*, proteína com domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos; *RIG-1*, gene 1 induzível por ácido retinoico; *ROS*, espécies reativas de oxigênio; *TLR*, receptor *Toll-like*, *TNF-α*, fator de necrose tumoral-α.

Quimiotaxia e Migração de Leucócitos

Fatores quimiotáticos produzidos em resposta a infecção e respostas inflamatórias, tais como os componentes do complemento (C3a, C5a), produtos bacterianos (p.ex., formil-metionil-leucil-fenilalanina [f-met-leu-phe]) e quimiocinas, são potentes quimioatrativos de neutrófilos, macrófagos e, em uma resposta mais tardia, de linfócitos. As quimiocinas são pequenas proteínas semelhantes às citocinas que direcionam a migração dos glóbulos brancos para o local da infecção ou inflamação ou para diferentes localizações teciduais. A maioria das quimiocinas são CC (cisteínas adjacentes) ou CXC (cisteínas separadas por um aminoácido) e se ligam a receptores específicos acoplados à proteína G. As quimiocinas estabelecem um "caminho" iluminado quimicamente para orientar essas células para o local de uma infecção e também ativá-las. Combinadas com TNF-α, as quimiocinas induzem as células endoteliais que revestem os capilares (próximos à inflamação) e os leucócitos a expressarem moléculas de adesão ("velcro molecular"). Os leucócitos lentamente rolam e se aderem ao revestimento endotelial e, em seguida, extravasam através da parede capilar para o local da inflamação, um processo chamado *diapedese* (Fig. 8-6).



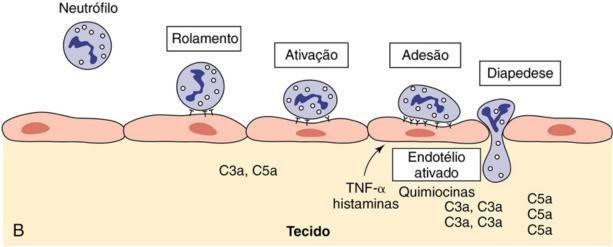


FIGURA 8-6 A e B, Diapedese de neutrófilos em resposta a sinais inflamatórios. Fator de necrose tumoral (*TNF*)-α e quimiocinas ativam a expressão de selectinas e moléculas de adesão intercelulares no endotélio próximo à inflamação e os seus ligantes nas superfícies dos neutrófilos: integrinas, L-selectina e antígeno-1 associado à função de leucócitos (LFA-1). O neutrófilo de modo progressivo se liga mais firmemente ao endotélio até, através deste, encontrar seu caminho. Células epiteliais, células de Langerhans, macrófagos ativados por microrganismos e interferon (*IFN*)-γ produzem TNF-α, outras citocinas e quimiocinas para melhorar a diapedese. *IL*, Interleucina; *NK*, *natural killer*. (A, De Abbas AK, Lichtman AH: Basic immunology: functions and disorders of the immune system, ed 4, Philadelphia, 2012, WB Saunders.)

Respostas Fagocitárias

Os neutrófilos polimorfonucleares (PMN) são as primeiras células a chegar ao local em resposta à infecção; eles são seguidos posteriormente pelos monócitos e macrófagos. Os **neutrófilos** provêm a importante resposta antibacteriana e antifúngica e contribuem para a inflamação. Um aumento do número de neutrófilos no sangue, em fluidos corporais (p.ex., líquido cefalorraquidiano) ou em tecidos geralmente indica uma infecção bacteriana. A infecção recruta a liberação de **formas imaturas, os bastonetes**, a partir da medula óssea, descrito como um "desvio à esquerda", (*esquerda* refere-se ao início de um gráfico do desenvolvimento de neutrófilos).

A fagocitose de bactérias ou fungos por macrófagos e neutrófilos envolve três etapas: ligação, internalização e digestão. A ligação é mediada por receptores de carboidratos da superfície celular (lectinas [proteínas ligantes de açúcares específicos]), receptores de fibronectina (especialmente para *Staphylococcus aureus*) e receptores para opsoninas, incluindo a fração do complemento (C3b), a lectina de ligação à manose e a porção Fc dos anticorpos. Após a ligação, uma parte da membrana plasmática envolve a partícula para formar um vacúolo fagocítico em torno do microrganismo. Esse vacúolo funde-se com os lisossomos primários (macrófagos) ou grânulos (PMN) para permitir a inativação e digestão do conteúdo do vacúolo.

Na fagocitose, a destruição dos patógenos pode ser oxigênio-dependente ou independente (Fig. 8-7). Os neutrófilos não precisam de ativação especial para matar microrganismos internalizados, mas sua resposta é reforçada por IL-17 e TNF- α . A ativação de macrófagos é promovida por IFN- γ (principalmente) e GM-CSF, que são produzidos por células NK e NKT precocemente ou, mais tarde, por células T CD4 e CD8. Essa ativação é sustentada por TNF- α e linfotoxina (TNF- β). A ativação dos macrófagos é necessária para que eles possam destruir eficientemente microrganismos internalizados.

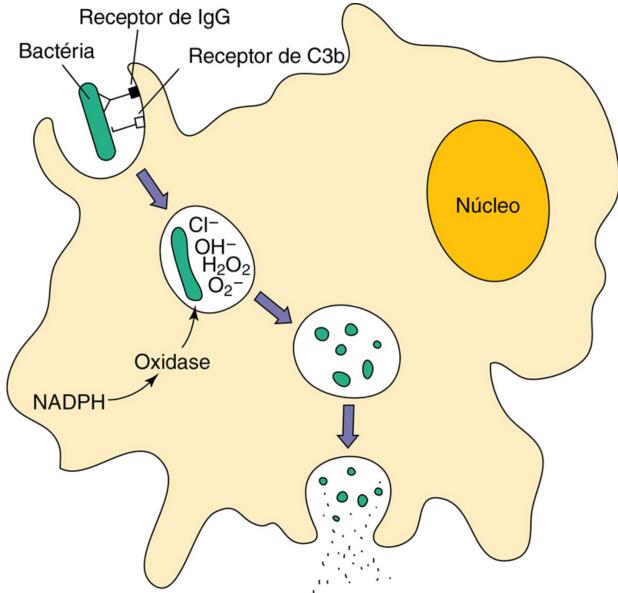


FIGURA 8-7 Fagocitose e morte de bactérias. As bactérias são ligadas diretamente ou são opsonizadas pela lectina de ligação à manose, imunoglobulina G (*Ig*)G e/ou C3b, promovendo a sua adesão e captação pelos fagócitos. Dentro do fagossomo, mecanismos oxigênio-dependentes e oxigênio-independentes matam e degradam as bactérias. *NADPH*, Forma reduzida da nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato.

A **destruição oxigênio-dependente** é mediada por espécies reativas de oxigênio (ROS), íons hipocloroso, e óxido nítrico (Quadro 8-4). No neutrófilo, mas não no macrófago, o peróxido de hidrogênio na presença de **mieloperoxidase** (liberada pelos grânulos primários durante a sua fusão ao fagolisossomo) transforma os íons cloreto em íons hipoclorosos (solução de hipoclorito). O **óxido nítrico** produzido por neutrófilos e macrófagos ativados possui atividade antimicrobiana e também é uma importante molécula que age como segundo mensageiro, intensificando as respostas inflamatórias e de outro tipo.



Quadro 8-4 Compostos Antibacterianos do Fagolisossoma

Compostos Dependentes de Oxigênio

Peróxido de hidrogênio: NADPH oxidase e NADH oxidase

Superóxido

Radicais hidroxila (·OH-)

Haletos ativados (Cl⁻, I⁻, Br⁻): mieloperoxidase (neutrófilos)

Óxido nitroso

Compostos Independentes de Oxigênio

Ácidos

Lisossomo (degrada peptideoglicano bacteriano)

Lactoferrina (quela o ferro)

Defensinas e outras proteínas catiônicas (danos às membranas)

Proteases: Elastase, Catepsina G

NADH, Forma reduzida da nicotinamida-adenina dinucleotídeo; NADPH, forma reduzida da nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato.

O neutrófilo também pode mediar a destruição oxigênio-independente dos patógenos com a fusão do fagossomo a grânulos azurófilos que contêm proteínas catiônicas (p.ex., catepsina G) e grânulos específicos contendo lisozima e lactoferrina. Essas proteínas destroem bactérias Gram-negativas, por romperem a integridade da sua membrana celular, mas são muito menos eficazes contra bactérias Gram-positivas e fungos, os quais são mortos sobretudo através dos mecanismos dependentes do oxigênio.

Os neutrófilos também promovem a inflamação. Eles liberam prostaglandinas e leucotrienos, que aumentam a permeabilidade vascular, causando inchaço (edema) e estimulando os receptores de dor. Além disso, durante a fagocitose, os grânulos podem extravasar o seu conteúdo, provocando dano tecidual. Os neutrófilos têm vida curta; após a morte no local da infecção, eles liberam o seu conteúdo de DNA e dos grânulos, formando uma rede pegajosa para capturar e matar micróbios (armadilhas extracelulares de neutrófilos [NETs]), e neutrófilos mortos tornam-se pus.

Os macrófagos em repouso são fagocitários e internalizarão os micróbios, mas, ao contrário dos neutrófilos, não têm os grânulos de moléculas antimicrobianas pré-formados para matá-los. A infecção intracelular pode ocorrer após a infecção de macrófagos em repouso ou se o micróbio conseguir neutralizar as atividades antimicrobianas de um macrófago ativado. A ativação do macrófago por IFN-γ, fazendo com que os macrófagos "fiquem com raiva", promove a produção da enzima óxido nítrico-sintase induzível (iNOS), óxido nítrico, outras ROS e enzimas antimicrobianas utilizadas para destruir microrganismos internalizados. Os macrófagos ativados também produzem citocinas de fase aguda (IL-1, IL-6 e TNF-α) e, possivelmente, IL-23 ou IL-12. Os macrófagos têm vida longa e, com o auxílio de células T, podem manter a resposta inflamatória.

Os macrófagos do baço são importantes para eliminar as bactérias circulantes no sangue, em especial as bactérias encapsuladas. Indivíduos asplênicos (congênita ou cirurgicamente) são altamente suscetíveis a pneumonia, meningite e outras manifestações de *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* e outras bactérias encapsuladas e leveduras.

Respostas Associadas à Flora Normal

As respostas inatas são constantemente estimuladas pela flora normal da pele, narinas, região oral, urogenital e trato gastrointestinal. As células dendríticas sondam continuamente o intestino e detectam LPS, ácido lipoteicoico (LTA), flagelos e outros componentes das bactérias no interior do lúmen. Um equilíbrio é mantido entre as respostas inflamatórias e imunológicas reguladoras frente a estímulos microbianos. A ruptura do equilíbrio pode resultar em gastroenterite, doença inflamatória intestinal ou doenças autoimunes.

Inflamação

Citocinas Pró-inflamatórias

As citocinas pró-inflamatórias, por vezes referidas como *citocinas de fase aguda*, são as IL-1, TNF- α e IL-6 (Fig. 8-8 e Tabela 8-3). Essas citocinas são produzidas por macrófagos ativados e outras células. IL-1 e TNF- α compartilham propriedades. Ambas são **pirógenos endógenos** capazes de estimular a febre, promover reações inflamatórias locais e estimular a síntese de proteínas de fase aguda.

TNF-α/IL-1

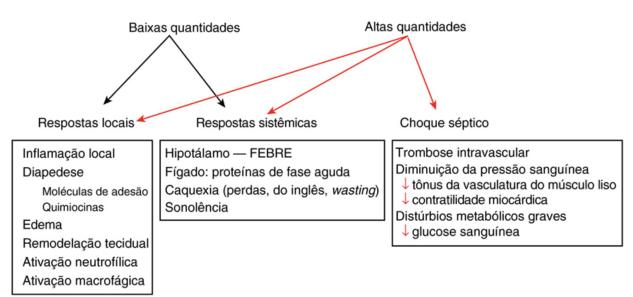


FIGURA 8-8 O bom, o mau, e os efeitos nefastos do fator de necrose tumoral (*TNF*)- α e da interleucina (*IL*)-1. Baixas concentrações ativam a inflamação local (promovem a circulação de fluido, proteínas e células do sangue para o local da infecção) e respostas de suporte. Altas concentrações ativam a inflamação sistêmica e o choque séptico.



Citocinas da Imunidade Inata (STAT)

Citocina [†]	Fonte	Estímulo	Ação	Alvo
TNF-α	Macrófagos, células T	PAMP, inflamação	Respostas de fase aguda, promove a inflamação, febre, sintomas de sepse, caquexia, permeabilidade vascular, tônus muscular alterado, apoptose (algumas células)	Células endoteliais, neutrófilos, macrófagos, hipotálamo, fígado, mastócitos, músculo e outras células
IL-1 (α e β clivadas)	Macrófagos, queratinócitos, células endoteliais e algumas células epiteliais	PAMP, inflamação	Respostas de fase aguda, promove a inflamação, febre, sintomas de sepse, síntese de proteínas de fase aguda	Células endoteliais, hipotálamo, fígado, e outras células
IL-6	Macrófagos, células endoteliais e células T	PAMP, inflamação	Respostas de fase aguda, reforça as respostas de fase aguda, estimula células T e B	Macrófagos, células endoteliais e células T
IFN tipo 1 (α e β)	Maioria das células, células dendríticas plasmocitoides	Infecção viral (especialmente por vírus RNA)	Inibe a replicação viral, ativa células NK, melhora a resposta imune	Células infectadas por vírus, células NK e células T
Quimiocinas	Macrófagos, células dendríticas e muitas outras células	PAMP, inflamação, C5a, TNF-α	Quimiotaxia, direcionamento de células para a infecção/inflamação	Leucócitos, linfócitos, células endoteliais e outras células
IL-12 (p70)	Macrófagos, células dendríticas	PAMP	Promove a resposta imune Th1, ativa células NK	Células NK e células T
IL-23	Macrófagos, células dendríticas	PAMP	Promove a resposta Th17	Células T
IL-18 (clivada)	Macrófagos/inflamassoma	PAMP, inflamação	Promove a produção de IFN-γ	Células NK e células T
IFN tipo II (γ)	Células NK e células T	IL-18, IL-12 (respostas Th1)	Ativa atividade antimicrobiana, produção de óxido nítrico-sintetase induzível, outras atividades	Macrófagos, células dendríticas e células B

IFN, Interferon, IL, interleucina; NK, natural killer, PAMP, padrões moleculares associados a patógeno; TH, T auxiliar (célula); TNF, fator de necrose fumoral

O TNF- α é o mediador final da inflamação e responsável pelos efeitos sistêmicos da infecção. O TNF- α estimula as células endoteliais a expressar as moléculas de adesão e quimiocinas para atrair leucócitos para o local da infecção, enfraquece as firmes junções (do inglês, *tight junctions*) epiteliais para permitir a diapedese, ativa os mastócitos que revestem a vasculatura para liberarem histamina e promover a infiltração de fluido, ativa neutrófilos e macrófagos e induz apoptose de determinados tipos de células. Sistemicamente, o TNF atua no hipotálamo para induzir febre, podendo causar alterações metabólicas sistêmicas como perda de peso (caquexia) e perda de apetite. Também age aumentando a produção de IL-1, IL-6 e quimiocinas, além de promover a síntese de proteínas de fase aguda pelo fígado. Em concentrações elevadas, o TNF- α induz todas as funções que conduzem ao choque séptico.

Existem dois tipos de **IL-1**: IL-1 α e IL-1 β . A IL-1 é produzida principalmente por macrófagos ativados, mas também por neutrófilos, células epiteliais e endoteliais. A IL-1 β deve ser clivada pelo inflamassoma para se tornar ativa. A IL-1 compartilha muitas das propriedades de TNF- α para promover respostas inflamatórias locais e sistêmicas. Ao contrário do TNF- α , a IL-1 é um fator de crescimento, não pode induzir a apoptose e, apesar de aumentada em situações de choque séptico, ela não é suficiente para causá-lo.

A IL-6 é produzida por diversos tipos de células e atua promovendo a síntese de proteínas de fase aguda no fígado, a produção de neutrófilos na medula óssea e a ativação dos linfócitos T e B. A IL-23 e a IL-12 são citocinas que fazem a ponte entre as respostas inata e imune adaptativa. Ambas as citocinas têm duas subunidades: a IL-12, composta por subunidade p40 e subunidade p35; e a IL-23, composta por subunidade p19 e também pela subunidade p40. IL-23 promove respostas Th17 a partir de células T de memória, o que aumenta a ação dos neutrófilos. A IL-12 promove a função das células NK e também é necessária para promover uma resposta imune do tipo Th1, a qual ativa as funções dos macrófagos e de outras células mieloides. Essas citocinas e suas ações sobre as células T serão discutidas no Capítulo 9. A IL-18 é produzida por macrófagos, devendo ser clivada pelo inflamassoma para se tornar ativa e promover as funções das células T e NK.

^{*} STAT: sigla de informações essenciais para cada citocina: Source (fonte), Trigger (estímulo), Action (ação), Target (alvo).

[†] A tabela não inclui todas as fontes de células, estímulos, atividades ou alvos.

Inflamação Aguda

A **inflamação aguda** é um mecanismo de defesa precoce para conter a infecção, evitar a sua propagação a partir do foco inicial e ativar respostas imunes subsequentes. No início, a inflamação pode ser desencadeada pela resposta aos sinais de perigo resultantes de infecção e dano tecidual. Os mastócitos respondem com a liberação de histamina, TNF- α e prostaglandinas que podem provocar aumento na permeabilidade dos capilares. Junto com quimiocinas, IL-1, e complemento, esses agentes podem promover a inflamação aguda.

Os três principais eventos na inflamação aguda são: (1) dilatação dos capilares para aumentar o fluxo sanguíneo (causando vermelhidão ou uma erupção cutânea e liberando calor); (2) aumento da permeabilidade da estrutura da microvasculatura para permitir o escape de fluidos, proteínas do plasma e leucócitos da circulação (causando inchaço ou edema); e (3) o recrutamento de neutrófilos, seu acúmulo e resposta à infecção no local da lesão. As respostas inflamatórias são benéficas, mas estão associadas a dor, vermelhidão, calor e inchaço e também podem causar dano tecidual. Os mediadores da inflamação estão listados na Tabela 8-4.



Tabela 8-4

Mediadores da Inflamação Aguda e Crônica

Ação	Mediadores
Inflamação Aguda	
Permeabilidade vascular aumentada	Histamina, bradicinina, C3a, C5a, leucotrienos, PAF, substância P
Vasodilatação	Histamina, prostaglandinas, PAF, óxido nítrico (NO)
Dor	Bradicinina e prostaglandinas
Adesão de leucócitos	Leucotrieno B4, IL-1, TNF-α, C5a
Quimiotaxia de leucócitos	C5a, C3a, IL-8, quimiocinas, PAF, leucotrieno B4
Resposta de fase aguda	IL-1, IL-6, TNF-α
Dano tecidual	Proteases, radicais livres, NO, conteúdo dos grânulos de neutrófilos
Febre	IL-1, TNF, prostaglandinas
Inflamação Crônica	
Ativação de células T e macrófagos, processos de fase aguda	Células T (TNF, IL-17, IFN-γ), macrófagos (IL-1, TNF-α, IL-23, IL-12), citocinas

De Novak R: Crash course immunology, Philadelphia, 2006, Mosby.

IFN-γ, Interferon-γ; IL, interleucina; PAF, fator de ativação de plaquetas; TNF, fator de necrose tumoral.

Os danos teciduais são causados em parte por complemento e macrófagos, mas principalmente por neutrófilos e seus produtos. Neutrófilos mortos são um componente importante na formação do **pus**. As cininas e os fatores da coagulação induzidos por danos teciduais (p.ex., o factor XII [fator de Hageman], bradicinina, fibrinopeptídeos) também estão envolvidos na inflamação. Esses fatores aumentam a permeabilidade vascular e são quimiotáticos para leucócitos. Produtos do metabolismo do ácido araquidônico também afetam a inflamação. A ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e a 5-lipo-oxigenase convertem o ácido araquidônico em **prostaglandinas** e **leucotrienos**, respectivamente. Estes podem mediar, essencialmente, todos os aspectos da inflamação aguda. O curso da inflamação pode ser acompanhado de um rápido aumento das proteínas de fase aguda, especialmente a proteína C-reativa (que pode aumentar 1.000 vezes dentro de 24 a 48 horas) e a amiloide sérica A (do inglês, SAA, *serum amyloid A*)).

Resposta de Fase Aguda

A resposta de fase aguda é desencadeada por infecção, lesão tecidual, prostaglandina E₂, interferons associados a infecção viral, citocinas de fase aguda (IL-1, IL-6, TNF-α) e inflamação (Quadro 8-5). Essa resposta promove mudanças que suportam as defesas do hospedeiro e incluem febre, anorexia, sonolência, alterações metabólicas e produção de proteínas. As proteínas de fase aguda que são produzidas e liberadas no soro incluem a proteína C-reativa, a SAA, os componentes do complemento, as proteínas da coagulação, as proteínas de ligação ao LPS, as proteínas de transporte, os inibidores de protease e as proteínas de adesão. A **proteína C-reativa** se liga aos polissacarídeos de numerosas bactérias e fungos, ativando a cascata do complemento, o que facilita a remoção desses microrganismos pelo aumento da fagocitose. A hepcidina inibe a absorção do ferro pelo intestino e pelos macrófagos, e isso reduz a disponibilidade desse íon para os microrganismos. As proteínas de fase aguda reforçam as defesas inatas contra a infecção, mas a sua produção excessiva durante a sepse (induzida por endotoxina e bacteremia) pode causar problemas sérios, como o choque séptico.



 α_1 -Antitripsina

 α_1 -Glicoproteína

Amiloides A e P

Antitrombina III

Proteína C-reativa

Inibidor da esterase C1

Proteínas C2, C3, C4, C5 e C9 do complemento

Ceruloplasmina

Fibrinogênio

Haptoglobina

Orosomucoide

Plasminogênio

Transferrina

Proteína de ligação ao lipopolissacarídeo

Lectina de ligação à manose

Sepse e "Tempestades" de Citocinas

"Tempestades" de citocinas são geradas por uma liberação excessiva de citocinas em resposta aos componentes da parede celular bacteriana (em especial LPS), toxinas do choque tóxico e certas infecções virais. Respostas inatas intensas são provocadas pela presença de micróbios no sangue durante a bacteremia e viremia. Durante a bacteremia, grandes quantidades de C5a e citocinas são produzidas e distribuídas pelo corpo (Fig. 8-9). C5a e TNF-α promovem extravasamento vascular, ativação de neutrófilos e ativação da cascata da coagulação. As DCs plasmocitoides no sangue produzem grandes quantidades de citocinas inflamatórias e IL-12 em resposta aos PAMPs bacterianos. A endotoxina é em especial um potente ativador de células e indutor de produção de citocinas e sepse (Fig. 14-4). "Tempestades" de citocinas podem também ocorrer após a estimulação anormal de células T e das células apresentadoras de antígenos (DCs, macrófagos e células B) por superantígenos produzidos por *S. aureus* ou *Streptococcus pyogenes* (Fig. 14-3). Durante a viremia, grandes quantidades de IFN-α e outras citocinas são produzidas pelas DCs plasmocitoides e pelas células T.

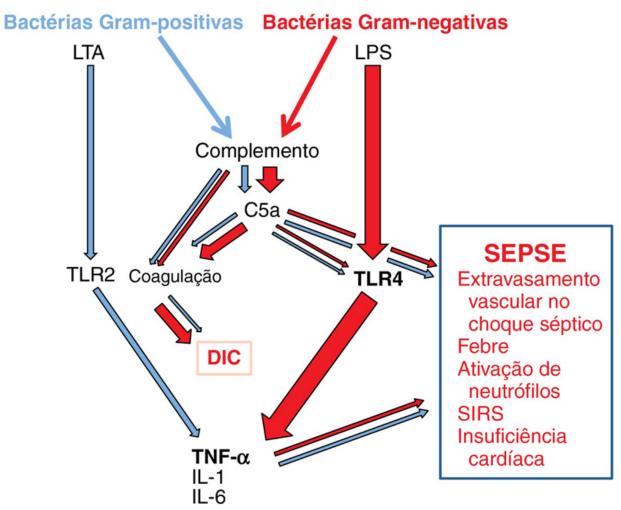


FIGURA 8-9 Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas induzem sepse por caminhos comuns e distintos. Lipopolissacarídeos (*LPS*) de superfícies bacterianas ativam o complemento, produzindo C5a, que promove a inflamação e ativa a coagulação. LPS, Ácido lipoteicoico (*LTA*) e outros padrões moleculares associados a patógeno interagem com receptores *Toll-like* (*TLR*) e outros receptores de padrão de patógenos para ativar a inflamação e a produção de citocinas pró--inflamatórias. Todos esses fatores se somam à sepse. A espessura da seta indica a intensidade da resposta. Vermelho é para bactérias Gram-negativas, e azul, para as bactérias Gram-positivas. *CID*, Coagulação intravascular disseminada; *IL*, interleucina; *SRIS*, síndrome da resposta inflamatória sistêmica; *TNF-α*, fator de necrose tumoral-α. (Modificado de Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA: Harmful molecular mechanisms in sepsis, Nat Rev Immunol 8:776–787, 2008.)

Embora benéficas em uma base e local limitados, as citocinas em excesso no sangue podem induzir o trauma inflamatório com risco de vida ao longo de todo o corpo. Mais significativamente, o aumento da permeabilidade vascular pode resultar em extravasamento de líquidos da corrente sanguínea para o tecido, causando choque. O choque séptico é uma consequência da tempestade de citocinas e pode ser atribuído à ação sistêmica de grandes quantidades de C5a e TNF- α .

Ponte para Respostas Imunes Antígeno-Específicas

A resposta inata é muitas vezes suficiente para controlar uma infecção, mas também inicia respostas imunes antígenoespecíficas. As DCs (e as células de Langerhans, se na pele) fornecem a ponte entre as respostas inata e imune adaptativa. Tornam-se ativadas no local de infecção, processam e fornecem proteínas antigênicas para as células T no nódulo linfático e produzem citocinas adequadas para induzir a resposta necessária de células T (Fig. 8-10). Antígenos Ativação

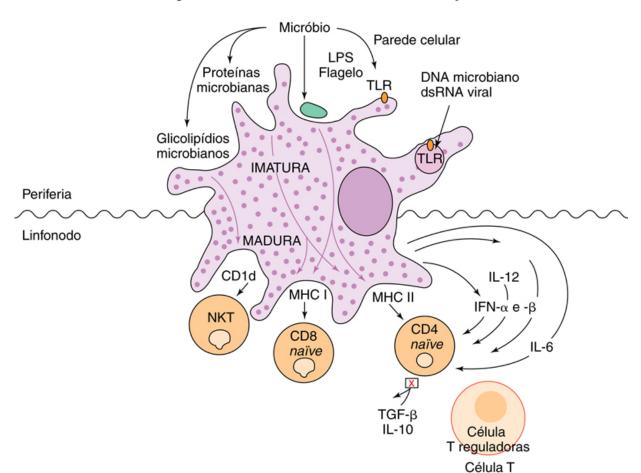


FIGURA 8-10 As células dendríticas (DCs) iniciam e dirigem as respostas imunes. As DCs imaturas constantemente internalizam e processam proteínas, detritos e microrganismos, quando presentes. A ligação de componentes microbianos aos receptores *Toll-like (TLR)* ativa a maturação da DC e ela deixa de internalizar qualquer material novo, move-se para o linfonodo, regula positivamente as moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (*MHC*) II e correceptores B7 e B7-1 para apresentação do antígeno, e produz citocinas que ativam as células T. As interações da superfície celular e citocinas ativam as células T e dirigem a natureza da resposta subsequente. *IFN*, Interferon; *LPS*, lipopolissacarídeo.

As iDCs, DCs intestinais e as células de Langerhans na pele estão constantemente adquirindo material antigênico por macropinocitose, pinocitose ou fagocitose de células apoptóticas, "debris" e proteínas no tecido normal, no local da infecção ou do tumor. Quando ocorre ativação combinada por danos teciduais e sinais associados a agentes patogênicos, as citocinas de fase aguda (IL-1, IL-6 e TNF-α) são liberadas, a iDC torna-se uma DC e muda suas propriedades. A DC perde a sua capacidade de fagocitar material antigênico irrelevante, capta apenas os "debris" microbianos e migra para o nódulo linfático. Por analogia, a iDC é como uma ostra, constantemente examinando seu ambiente e filtrando os detritos celulares e microbianos (quando presentes); mas quando acionada por um sinal de PAMPR, que indica que os microrganismos estão presentes, ela libera um alarme de citocinas, fecha sua concha e move-se para o linfonodo para desencadear uma resposta ao desafio. Tendo experimentado o desafio, a DC dirige a resposta adequada para as células T. As DCs maduras movem-se para as áreas de células T dos linfonodos e passam a expressar mais moléculas que participam da apresentação ótima do antígeno (MHC classe II e B7-1 e B7-2 [moléculas coestimuladoras]) em suas superfícies. DCs maduras ativadas por microrganismos promovem a liberação de citocinas (p.ex., IL-12, IL-23), que ativam respostas para reforçar as defesas locais do hospedeiro (respostas Th1, Th17). As DCs apresentam material antigênico ligado ao MHC classe I, às células T CD8; ligado a moléculas CD1 para as NKTs e ligado a moléculas de MHC de classe II às células T CD4. As DCs são tão eficazes na apresentação de antígeno, que 10 células carregadas com antígeno são suficientes para iniciar a imunidade protetora em ratos, contra uma ameaça bacteriana letal. As respostas das células T serão descritas no capítulo seguinte.

Referências Bibliográficas

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al. Cellular and molecular immunology. ed 7 Philadelphia: WB Saunders; 2011.

Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signaling. Nat Rev Immunol. 2004;4:499-511.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M. *Immunity: the immune response in infectious and inflammatory disease*. Sunderland, Mass: Sinauer Associates; 2007.

Janeway CA, Travers P, Walport M, et al. *Immunobiology: the immune system in health and disease*. ed 6 New York: Garland Science; 2004. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. *Kuby immunology*. ed 7 New York: WH Freeman; 2011.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. ed 7 Philadelphia: Elsevier; 2005.

Lamkanfi M. Emerging inflammasome effector mechanisms. Nat Rev Immunol. 2011;11:213–220.

Netea MG, van der Meer JW. Immunodeficiency and genetic defects of pattern-recognition receptors. N Engl J Med. 2011;364:60-70.

Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. Nat Rev Immunol. 2008;8:776–787.

Sompayrac L. How the immune system works. ed 2 Malden, Mass: Blackwell Scientific; 2003.

Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. Annu Rev Immunol. 2003;21:335–376.

Trends Immunol: Issues contain understandable reviews on current topics in immunol.

CAPÍTULO 9

Respostas Imunes Antígeno-específicas



Animações para este capítulo estão disponíveis no www.evolution.com.br

Respostas imunes específicas para o antígeno fornecidas pelas células T e B e por anticorpos expandem as proteções disponibilizadas pelo hospedeiro através das respostas inatas. Quase todas as moléculas têm o potencial para iniciar uma resposta imune e, ainda assim, o sistema não responde normalmente às próprias moléculas. O sistema imune específico para o antígeno é um sistema gerado de modo aleatório, coordenadamente regulado, indutível e ativável, que ignora as proteínas próprias (não gerando resposta contra elas), respondendo especialmente contra a infecção e protegendo o organismo. Quando não está trabalhando corretamente, a resposta imune pode ser desregulada, superestimulada, descontrolada, reativa às autoproteínas, indiferente ou pouco sensível às infecções e pode tornar-se a causa da patogênese da doença. Uma vez que esteja especificamente ativada por exposição a um novo antígeno, a resposta imune se expande rapidamente em força, número de células e especificidade. Para proteínas, a memória imunológica se desenvolve para permitir a mais rápida resposta após a reexposição.

O anticorpo e as moléculas do receptor de células T (TCR), que é um receptor semelhante à imunoglobulina (ou anticorpo) (do inglês, *immunoglobulin- or antibody-like*) reconhecem antígenos e atuam como receptores para ativar o crescimento e as funções dessas células que podem provocar a resposta antígeno-específica. As formas solúveis do anticorpo no sangue, fluidos corporais ou segregadas através das membranas protegem o corpo por inativação e eliminação de toxinas e micróbios, especialmente quando estes estão no sangue (bacteremia, viremia). As células T são importantes para ativar e regular as respostas inatas e imunes adaptativas e, também, para a eliminação direta de células que expressam antígenos inapropriados.

Embora algumas moléculas induzam apenas uma resposta imune limitada via anticorpos (carboidratos e lipídeos), as proteínas e as moléculas conjugadas a proteínas (incluindo os carboidratos conjugados) induzem uma resposta imune mais completa, que inclui as células T. A ativação de uma resposta imune completa é altamente controlada, pois utiliza uma grande quantidade de energia e, uma vez iniciada, desenvolve memória e mantém-se por quase toda a vida. O desenvolvimento de uma resposta imune específica para o antígeno progride a partir das respostas inatas pelas células dendríticas (DCs), que dirigem as células T para recrutar outras células T, células B e outras células para o desenvolvimento e a ativação das respostas necessárias. As interações com os receptores celulares e receptores de citocinas fornecem os sinais necessários para ativar o crescimento das células e responder à ameaça ao organismo. As células T determinam que tipo de anticorpo (imunoglobulina [Ig]G, IgE, IgA) as células B vão produzir e promovem o desenvolvimento das células de memória. As células T regulam continuamente todo o sistema, mantendo um equilíbrio que, em geral, minimiza a inflamação, mas ainda permite a proteção contra micróbios normais e patogênicos.

Imunógenos, Antígenos e Epítopos

Quase todas as proteínas e carboidratos associados a um agente infeccioso — seja bactéria, fungo, vírus ou parasita — são considerados estranhos ao organismo humano e têm o potencial de induzir uma resposta imune. Uma proteína ou carboidrato que seja reconhecido é suficiente para iniciar uma resposta imune e, por isso, é denominado **imunógeno** (Quadro 9-1). Os imunógenos podem conter mais que um antígeno (p.ex., bactérias). Um **antígeno** é uma molécula que é reconhecida por anticorpos específicos ou pelo TCR nas células T. Um **epítopo** (determinante antigênico) é a estrutura molecular que realmente interage com uma única molécula de anticorpo ou TCR. Dentro de uma proteína, um epítopo pode ser formado por uma sequência específica (epítopo linear) ou uma estrutura tridimensional (epítopo conformacional). O TCR pode reconhecer apenas epítopos peptídicos lineares. Os antígenos e imunógenos quase sempre contêm vários epítopos, cada um capaz de se ligar a uma molécula de anticorpo diferente ou TCRs diferentes. Conforme descrito posteriormente neste capítulo, um anticorpo monoclonal reconhece um único epítopo.



Quadro 9-1 Definições

Adjuvante: substância que impulsiona uma resposta imune a um imunógeno

Antígeno: substância que é reconhecida pela resposta imune

Carreador: proteína modificada por hapteno para desencadear resposta

Epítopo: estrutura molecular mínima reconhecida pela resposta imune *Hapteno*: imunógeno incompleto, que não pode iniciar resposta, mas que pode ser reconhecido por anticorpos. *Imunógeno*: substância capaz de induzir uma resposta imunológica *Antígenos T-dependentes*: antígenos que devem ser apresentados às células T e B para a produção de anticorpos *Antígenos T-independentes*: antígenos com estruturas grandes e repetitivas (p.ex., bactérias, flagelina, lipopolissacarídeo, polissacarídeo).

Nem todas as moléculas são imunógenos. Em geral, as proteínas são os melhores imunógenos, os carboidratos são imunógenos fracos, os lipídeos e os ácidos nucleicos são imunógenos pobres. **Haptenos (imunógenos incompletos)** são muito pequenos para imunizar (i.e., iniciar uma resposta) um indivíduo, mas podem ser reconhecidos pelo anticorpo. Os haptenos podem se tornar imunogênicos por ligação a uma **molécula transportadora**, como uma proteína. Por exemplo, a conjugação da penicilina à albumina sérica converte-a em um imunógeno.

Durante a imunização artificial (p.ex., vacinas), muitas vezes é utilizado um adjuvante para aumentar a resposta ao antígeno. Os **adjuvantes** normalmente prolongam a presença do antígeno nos tecidos, promovendo a absorção do imunógeno ou ativando DCs, macrófagos e linfócitos. Alguns adjuvantes mimetizam os ativadores das respostas inatas presentes em uma imunização natural (p.ex., ligantes microbianos para os receptores *Toll-like*).

Algumas moléculas não vão estimular uma resposta imune do indivíduo. Durante o crescimento do feto, o corpo desenvolve **tolerância imunológica central** para autoantígenos e antígenos externos que possam ser introduzidos antes da maturação do sistema imune (Animação 9-1). Ao longo da vida, a **tolerância periférica** desenvolve-se a outras proteínas, prevenindo respostas descontroladas ou autoimunes. Por exemplo, a nossa resposta imune é tolerante com os alimentos que comemos; caso contrário, comer um bife poderia induzir uma resposta antimúsculo.

O tipo de resposta imune iniciada por um imunógeno depende da sua estrutura molecular. A resposta primária, rápida, com produção de anticorpos, pode ser iniciada por *polissacarídeos bacterianos (cápsula)*, *peptideoglicano ou flagelina*. Denominados **antígenos T-independentes**, essas moléculas possuem uma grande estrutura repetitiva que é suficiente para ativar as células B diretamente para a produção de anticorpos, sem a participação das células T auxiliares. Nesses casos, a resposta é limitada à produção de anticorpo **IgM**, as células de memória não são geradas, e a resposta **anamnéstica (reforço)** não pode ocorrer. A transição de uma resposta baseada em IgM para uma resposta IgG, IgE ou IgA resulta de uma grande mudança na célula B e é equivalente à diferenciação da célula. Isso requer auxílio fornecido por interações com células T e citocinas. As porções do antígeno (provavelmente diferentes) têm que ser reconhecidas e estimular as células T e B. **Antígenos T-dependentes** são proteínas; eles estimulam a produção de todas as cinco classes de imunoglobulinas e podem produzir memória imunológica e uma resposta anamnéstica.

A estrutura do antígeno, a quantidade, via de administração e outros fatores influenciam o tipo de resposta imunológica e as classes de anticorpos produzidos. Por exemplo, a administração oral ou nasal de uma vacina através das membranas da mucosa promove a produção da forma secretora de **IgA** (slgA), que não seria produzida em administração intramuscular.

Células T

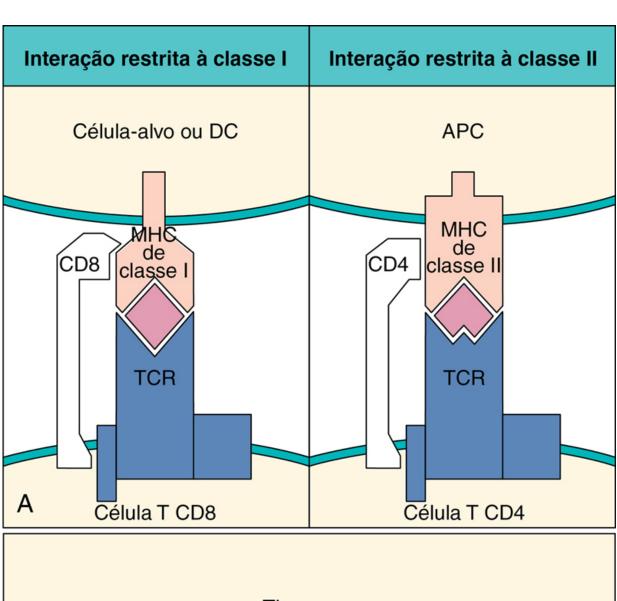
O timo é essencial para a produção de células T. Estas foram, inicialmente, distinguidas das células B por sua capacidade de se ligar a hemácias de sangue de ovelhas, com formação de "rosetas". Essa ligação ocorre através da molécula CD2 presente nas células T, que se comunicam diretamente por meio de interações célula a célula e pelas interações com citocinas. Essas células são laboratorialmente definidas através da utilização de anticorpos que distinguem as suas moléculas de superfície. As proteínas de superfície das células T incluem (1) TCR, (2) correceptores CD4 e CD8, (3) proteínas CD3 e proteínas acessórias que, em conjunto, promovem o reconhecimento, a regulação e a ativação, (4) receptores de citocinas e (5) proteínas de adesão. As células T podem ser caracterizadas pelo tipo de receptor de antígeno, que pode ser constituído por cadeias γ e δ ou cadeias α e β . As células T de TCR α/β podem ser distinguidas pela presença dos correceptores CD4 ou CD8. Ainda, as células T podem ser adicionalmente distinguidas pela resposta que iniciam com as citocinas que produzem.

As células T auxiliares (CD4) ativam e controlam as respostas imunes e inflamatórias, por interações célula a célula específicas e pela liberação de citocinas. As células T auxiliares interagem com os antígenos peptídicos apresentados em moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II, expressas nas células apresentadoras de antígenos (APC) (DCs, macrófagos e células B). O repertório de citocinas secretadas por uma célula T CD4 específica em resposta ao antígeno define esse tipo celular. As células T CD4 também podem matar células-alvo através de sua proteína de superfície Fas ligante.

As células T CD8 são classificadas como células T citolíticas (ou citotóxicas), mas também podem produzir citocinas como as células T CD4. Células T CD8 ativadas "patrulham" o corpo em busca de células infectadas por vírus ou células tumorais, que são identificadas por peptídeos antigênicos apresentados por moléculas MHC de classe I. As moléculas do MHC de classe I são encontradas em todas as células nucleadas.

Receptores de Superfície nas Células T

O complexo TCR é uma combinação da estrutura de reconhecimento do antígeno (TCR) com a maquinaria de ativação celular (CD3) (Fig. 9-1). As células T que expressam o TCR γ/δ estão presentes no sangue, epitélio das mucosas e outros locais teciduais, e são importantes para a estimulação da imunidade inata e da mucosa. Essas células constituem 5% dos linfócitos circulantes, mas expandem-se para entre 20% e 60% de células T durante certos tipos de infecções bacterianas e outras infecções. O TCR γ/δ detecta metabólitos microbianos incomuns e inicia respostas imunes mediadas por citocinas.



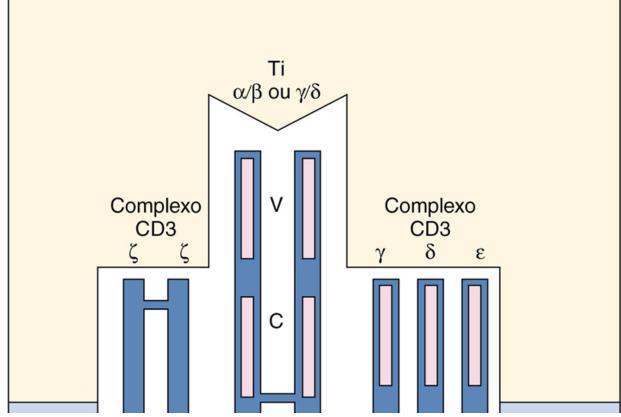




FIGURA 9-1 Restrição pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e apresentação de antígenos às células T. A, À esquerda, os peptídeos antigênicos ligados às moléculas do MHC de classe I são apresentados ao receptor de célula T (TCR), em células T CD8 citolíticas/citotóxicas. À direita, os peptídeos antigênicos ligados a moléculas do MHC de classe II em células apresentadoras de antígeno (APC) (células B, células dendríticas [DCs] ou macrófagos) são apresentados para as células T CD4 auxiliares. B, O receptor de células T. O TCR é constituído por subunidades diferentes. O reconhecimento do antígeno ocorre por meio das subunidades α/β ου γ/δ. O complexo CD3, composto pelas subunidades γ, δ, ε e ζ, promove a ativação de células T. C, Região constante; V, região variável.

O TCR α/β é expresso na maioria das células T, e estas são primariamente responsáveis por respostas imunológicas ativadas por antígeno. Além disso, as células T com o TCR α/β distinguem-se pela expressão quer de uma molécula de CD4, quer de CD8.

A especificidade do TCR determina a resposta antigênica da célula T. Cada molécula de TCR é constituída por duas cadeias polipeptídicas diferentes. Tal como com o anticorpo, cada cadeia de TCR tem uma região constante e uma região variável. O repertório de TCR é muito grande e pode identificar um número enorme de especificidades antigênicas (estimase uma capacidade de reconhecer 10^{15} epítopos diferentes). Os mecanismos genéticos para o desenvolvimento dessa diversidade também são semelhantes àqueles utilizados para a diversidade dos anticorpos (Fig. 9-2). O gene do TCR é composto de múltiplos segmentos V (V₁ V₂ V₃ ... V_n), D e J. Nas fases iniciais do desenvolvimento das células T, um segmento V específico recombina-se com um ou mais segmentos D, suprimindo e intervindo em outros segmentos D e V. Em seguida, sofre recombinação com um segmento J, formando um gene único de TCR. Como nos anticorpos, a inserção aleatória de nucleotídeos nas junções de recombinação aumenta o potencial de diversidade e a possibilidade de produção de TCR inativos. Ao contrário do que ocorre nos anticorpos, a mutação somática não ocorre nos genes de TCR. Apenas as células com TCRs funcionais sobreviverão. Cada célula T e sua progênie expressam um TCR único.

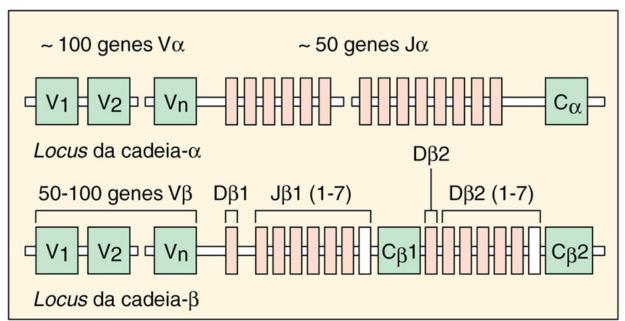


FIGURA 9-2 Estrutura do gene do receptor de célula T embrionário. Observe a similaridade da estrutura aos genes de imunoglobulinas. A recombinação desses segmentos também gera um repertório de reconhecimento diversificado. *C*, Sequências de conexão; *J e D*, segmentos; *V*, segmentos variáveis.

Ao contrário das moléculas de anticorpo, a maioria dos TCRs reconhece apenas um epítopo peptídico linear disposto no interior de uma fenda na superfície das moléculas do MHC I ou do MHC II (Fig. 9-1). A apresentação do antígeno peptídico requer processamento proteolítico especializado (veja mais adiante) e a ligação deste a moléculas do MHC II (em células apresentadoras de antígeno) ou a moléculas do MHC I (em células nucleadas).

O complexo CD3 é encontrado em todas as células T, e consiste nas cadeias polipeptídicas γ, δ, ε, e ζ. O complexo CD3 é a unidade de transdução de sinal para o TCR. Quando o antígeno se liga ao complexo TCR, proteínas tirosinaquinases (ZAP-70, Lck) associadas ao complexo CD3 promovem uma cascata de fosforilação de proteínas, ativação da fosfolipase C (PLC) e outros eventos. Os produtos da clivagem do trifosfato de inositol pela PLC provocam a liberação de cálcio e ativam a proteína quinase C e a calcineurina, uma proteína fosfatase. A calcineurina é um alvo para os

medicamentos imunossupressores ciclosporina e tacrolimus. A ativação de proteínas G de membrana, tais como a Ras, e as consequências das cascatas anteriormente descritas, resultam na ativação de fatores de transcrição específicos no núcleo. Esses eventos levam à ativação da célula T e à produção de interleucina (IL)-2 e do seu receptor, IL-2R. Esses passos estão descritos na Figura 9-3.

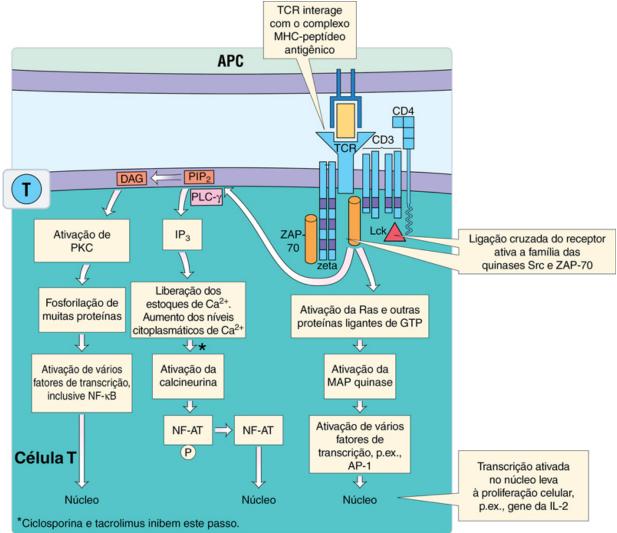


FIGURA 9-3 Vias de ativação das células T. A ligação do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) Ilpeptídeo ao receptor de células T (TCR) e ao CD4 ativa cascatas de quinases e fosfolipase C, levando à ativação do fator nuclear de células T ativadas (NF-AT), fator nuclear kappa B (NF-κβ), proteína ativadora 1 (AP-1) e outros fatores de transcrição. APC, Célula apresentadora de antígeno; DAG, diacilglicerol; GTP, trifosfato de guanosina; IL-2, interleucina-2, IP₃, 1,4,5-trifosfato de inositol; Lck, proteína tirosina quinase especifica de linfócitos; MAP quinase, proteína-quinase ativada por mitógenos; PIP₂, 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol; PKC, proteína quinase C; PLC-γ, fosfolipase C-γ; ZAP, proteína zeta-associada. (Modificado de Nairn R, Helbert M: Immunology for medical students, ed 2, Philadelphia, 2007, Mosby.)

As **proteínas CD4 e CD8** atuam como correceptores auxiliares do TCR (Fig. 9-1), porque facilitam a interação deste com a molécula do MHC (apresentadora de antígeno) e podem aumentar a resposta de ativação. CD4 liga-se a moléculas do MHC de classe II na superfície das APC. CD8 liga-se a moléculas do MHC de classe I na superfície das APCs e das células-alvo. Moléculas MHC de classe I são expressas em todas as células nucleadas (veja mais sobre MHC mais adiante neste capítulo). As porções citoplasmáticas das cadeias de CD4 e CD8 estão associadas a uma proteína tirosina quinase (Lck), o que aumenta a ativação induzida pelo TCR, ao se ligar à APC ou às células-alvo. CD4 ou CD8 são encontrados nas células T α/β , mas não nas células T γ/δ .

Moléculas acessórias expressas na superfície da célula T incluem vários receptores proteicos que interagem com proteínas presentes nas APCs e nas células-alvo, conduzindo a ativação da célula T, a promoção de interações mais estreitas entre as células ou a viabilização da morte da célula-alvo. Essas moléculas acessórias são as seguintes:

- CD45RA (células T nativas) ou CD45RO (células T de memória), uma proteína tirosina-fosfatase transmembrana (PTP)
- 2. **CD28** ou proteína-4 associada a linfócitos T citotóxicos **(CTLA-4)**, que se liga à proteína B7 das APC para liberar um sinal de coestimulação ou inibição para a célula T
- 3. **CD154 (CD40L)**, que está presente nas células T ativadas e se liga a CD40 nas DCs, macrófagos e células B para promover a sua ativação

4. FasL, que inicia a apoptose em uma célula-alvo que expressa Fas na sua superfície celular

Moléculas de adesão estreitam a interação da célula T com a APC ou célula-alvo e também podem promover a ativação. As moléculas de adesão incluem o antígeno-1 associado à função de leucócitos (LFA-1), que interage com as moléculas de adesão intercelulares (ICAM-1, ICAM-2, e ICAM-3) na célula-alvo. CD2 foi originalmente identificado pela sua capacidade de se ligar aos eritrócitos de ovelhas (receptores de eritrócitos). O CD2 liga-se a LFA-3 na célula-alvo e promove a adesão célula a célula e ativação de células T. Os antígenos muito tardios (VLA--4 e VLA-5) são expressos em células ativadas, mais tardiamente durante a resposta, e se ligam à fibronectina nas células-alvo para melhorar a interação.

As células T expressam receptores para muitas citocinas que ativam e regulam suas funções (Tabela 9-1). A ligação da citocina ao **receptor de citocina** ativa a proteína quinase e outras cascatas de ativação, que apresentam o seu sinal ao núcleo. Os **receptores para IL-2 (IL-2R)** são compostos por três subunidades. Subunidades β/γ estão presentes na maioria das células T (e também nas células *natural killer* [NK]) e têm afinidade intermediária para a IL-2. A expressão da subunidade α (**CD25**) é induzida pela ativação celular para formar um receptor de alta afinidade IL-2R $\alpha/\beta/\gamma$. A ligação de IL-2 ao IL-2R gera um sinal estimulador de proliferação para as células T, que também promove a produção de mais IL-2 e IL-2R. CD25 é expresso em células ativadas e em crescimento, incluindo a subpopulação de células T CD4 Treg (CD4+CD25+). Os **receptores de quimiocinas** distinguem as diferentes células T e orientam a célula para o seu destino no corpo.



Tabela 9-1

Citocinas que Modulam a Função das Células T

Tipo de Resposta	Fase Aguda*	Th1	Th17	Th2	Treg/Sup
Indutores	PAMPs	IL-12	IL-6 + TGF-β	IL-6	???
			IL-23 (células de memória)		
Mediadores	IL-1	IL-2	IL-17	IL-4	IL-10
	TNF-α	LT (TNF-β)	TNF-α	IL-5	TGF-β
	IL-6	IFN-γ	IL-22	IL-10	
	IFN-α				
	IFN-β				
	IL-12, IL-23				

IFN, Interferon; IL, interleucina; LT, linfotoxina; PAMPs, padrões moleculares associados a patógenos; Treg/Sup, T reguladora/supressora; TGF-β, fator transformador do crescimento-β; Th, T auxiliar (célula).

Desenvolvimento de Células T

Os precursores das células T diferenciam-se continuamente em células T no timo (Fig. 9-4; Animação 9-2). O contato com o epitélio do timo e hormônios, tais como a timosina, timulina e timopoietina II no timo, promove a extensa proliferação e diferenciação da população de células T do indivíduo durante o desenvolvimento fetal. Os indivíduos que congenitamente não possuem timo (síndrome de DiGeorge) carecem de células T. Ainda que os precursores das células T estejam no timo, cada célula sofre uma recombinação de sequências nos seus genes TCR para gerar um TCR único para aquela célula. Células T sem TCRs, tendo TCRs não funcionais, TCRs que não podem interagir com moléculas do MHC ou que reagem muito fortemente com peptídeos de proteínas próprias (TCR autorreativos), são forçadas a cometer suicídio (apoptose). As células epiteliais do timo têm a capacidade única de expressar a maioria das proteínas do genoma humano, de modo que as células T em desenvolvimento podem ser expostas ao repertório normal das proteínas humanas. Nas células epiteliais medulares do timo, a proteína reguladora autoimune (AIRE) é um fator de transcrição que promove a expressão da maioria das proteínas do corpo. Estas proteínas são processadas e apresentadas às células T, tornando possível a eliminação de células T que reconhecem autoantígenos. As células T sobreviventes diferenciam-se nas subpopulações de células T CD4 ou CD8 (Quadro 9-2). As células T entram no sangue e migram para os linfonodos, baço e outros locais.

^{*} As respostas de fase aguda influenciam, mas não são respostas de células T.

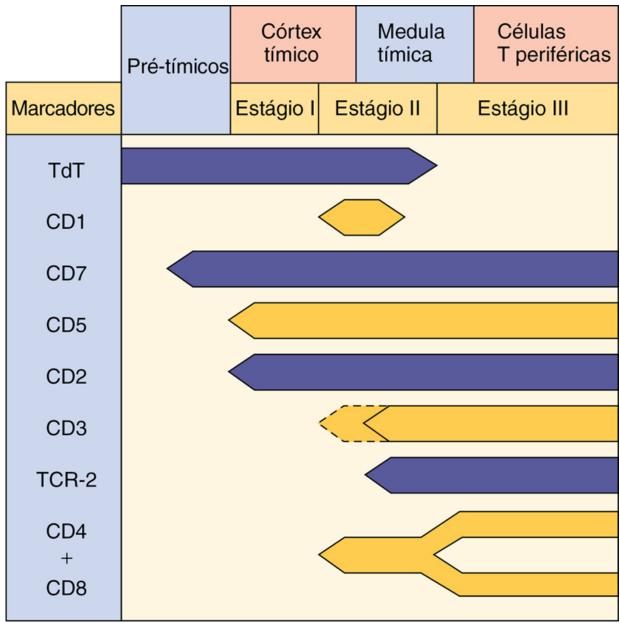
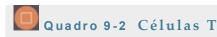


FIGURA 9-4 Desenvolvimento de células T humanas. Os marcadores de células T são úteis para a identificação das fases de diferenciação dessas células e para a caracterização de leucemias de célula T e linfomas. *TCR*, Receptor de células T; *TdT*, terminal citoplasmático da desoxinucleotidil-transferase.



Células T γ/δ

TCR γ/δ: reativo a metabólitos microbianos

Respostas locais: células residentes no sangue e tecidos

Respostas mais rápidas que as células T α/β

Produzem interferon-γ, ativam as células dendríticas e macrófagos

Células T α/β

CD4: TCR α/β é reativo a peptídeos apresentados no MHC II presente na célula apresentadora de antígeno As citocinas ativam e direcionam a resposta imune (Th1, Th2, Th17)

Também citotóxica, por meio de interações Fas-Fas ligante

Células Treg CD4, CD25: controlam e limitam a expansão da resposta imune; promovem a tolerância e o desenvolvimento de célula de memória

CD8: TCR α/β é reativo a peptídeos apresentados no MHC I

Citotóxica por meio de perforina e granzimas, e indutora de apoptose por meio de interações Fas-Fas ligante Além disso, produz citocinas semelhantes às das células CD4

Células NKT: TCR α/β reativo a glicolipídios (micobactérias) ligados às moléculas CD1d Destroem células tumorais e células infectadas por vírus, de forma semelhante às células NK

Fornecem suporte de citocinas precoce para respostas antibacterianas

MHC, Complexo principal de histocompatibilidade; NK, natural killer; TCR, receptor de células T.

Iniciação das Respostas de Células T

Apresentação de Antígenos para Células T

A ativação de uma resposta de células T antígeno-específica requer uma combinação de citocinas e interações de receptores célula a célula (Quadro 9-3), iniciada pela interação do TCR α/β com peptídeos antigênicos ligados ao MHC. Moléculas do **MHC de classes I e II** fornecem o suporte molecular para o peptídeo. Assim, as células T respondem apenas a epítopos de proteínas. A molécula **CD8** nas células T liga-se e promove a interação com a molécula MHC de classe I nas células-alvo (Fig. 9-1A). A molécula **CD4** nas células T liga-se e promove a interação com a molécula MHC de classe II nas APCs. As moléculas MHC são codificadas no *locus* do gene do MHC (Fig. 9-5). O MHC contém um conjunto de genes importantes para a resposta imune.



Quadro 9-3 Ativação de Respostas de Células T

Somente a célula dendrítica (DC) pode iniciar uma resposta de célula T CD4 ou CD8 naïve.

CD4:

Células apresentadoras de antígenos (APCs) apresentam peptídeos de 11-13 aminoácidos no MHC II.

Correceptor (B7.1 ou B7.2) na APC interage com os complementares na célula CD4, CD28 para ativar ou com o CTLA4 para suprimir a resposta.

As citocinas ativam e determinam a natureza da resposta.

A expressão de CD40L e ligação ao CD40 na APC são etapas necessárias para a ativação da APC.

A ativação da célula altera os receptores de quimiocinas e de proteínas de adesão, direcionando-a para penetrar no sangue e percorrer a pele, o tecido e zonas de células B do linfonodo.

CD8:

DC ativa células TCD8 com o auxílio das células T CD4.

As células T CD8 entram no sangue e percorrem a pele e o tecido.

A célula-alvo apresenta peptídeos de 8-9 aminoácidos no MHC I.

As proteínas de adesão criam sinapses imunológicas.

A perforina e a granzima são secretadas na sinapse imunológica.

A célula-alvo entra em apoptose.

Genes de classe II DP DQ DR B1 A1 B1 B2 B3 A Componentes do complemento C4B C4A BF C2 TNF-α TNF-β Genes de classe IV Genes de classe I

FIGURA 9-5 Mapa genético do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Os genes para as moléculas de classes I e II, bem como para os componentes do complemento e para o fator de necrose tumoral *(TNF)*, estão dentro do complexo de genes do MHC.

As moléculas do MHC de classe I são encontradas em todas as células nucleadas e são o principal determinante do que é "próprio". A molécula MHC de classe I, também conhecida como HLA em humanos e H-2 em ratos, é composta por duas cadeias, uma cadeia variável pesada e uma cadeia leve (β₂-microglobulina) (Fig. 9-6). Diferenças na cadeia pesada da molécula HLA entre indivíduos (diferenças alotípicas) provocam respostas de células T e impedem transplantes de enxertos (tecidos). Existem três principais genes HLA (HLA-A, HLA-B e HLA-C) e também outros genes HLA classe I (minor HLA genes). Cada célula expressa um par das diferentes proteínas HLA-A, HLA-B e HLA-C, uma de cada progenitor, proporcionando seis diferentes fendas para captar e apresentar um repertório de peptídeos antigênicos. A cadeia pesada da molécula do MHC de classe I forma uma fenda fechada ao fundo, como um pão árabe dobrado, que sustenta em seu interior um peptídeo de oito a nove aminoácidos. A molécula do MHC de classe I apresenta peptídeos antigênicos, na sua maioria de dentro da célula (endógenos), para as células T que expressam CD8. A suprarregulação da expressão de moléculas do MHC de classe I torna a célula um melhor alvo para a ação das células T. Algumas células (cérebro) e algumas infecções virais (vírus herpes simples, citomegalovírus), regulam negativamente a expressão de moléculas do MHC I para reduzir o seu potencial como alvo para as células T.

Pontos de ligação dos peptídeos

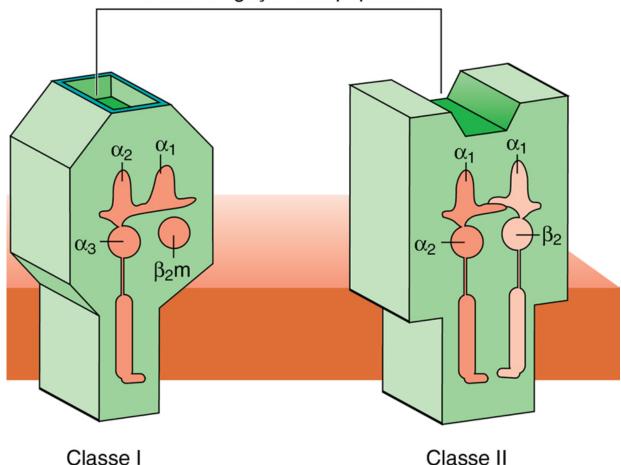


FIGURA 9-6 Estrutura das moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I e classe II. As moléculas MHC de classe I consistem em duas subunidades, as cadeias pesadas e a β_2 -microglobulina. A fenda de ligação do peptídeo é fechada em cada extremidade e pode conter apenas peptídeos de 8 a 9 aminoácidos. As moléculas MHC de classe II consistem em duas subunidades, α e β , e sustentam peptídeos de 11 ou mais aminoácidos.

As moléculas do MHC de classe II são geralmente expressas em células apresentadoras de antígeno, as células que interagem com células T CD4 (p.ex., macrófagos, DCs e células B). As moléculas MHC de classe II são codificadas pelos *loci* **DP**, **DQ** e **DR**. Assim como as moléculas do MHC de classe I, também são codominantemente expressas para produzir seis moléculas diferentes. As moléculas do MHC de classe II são dímeros de **subunidades** α **e** β (Fig. 9-6). *As cadeias da molécula do MHC de classe II formam uma fenda de suporte ao peptídeo, que se assemelha a um pão de cachorro-quente e pode sustentar um peptídeo contendo de 11 a 12 aminoácidos. A molécula do MHC de classe II apresenta peptídeos antigênicos fagocitados (exógenos) e processados para células T que expressam CD4.*

As **moléculas do MHC CD1** assemelham-se às moléculas do MHC de classe I e possuem uma cadeia pesada e uma cadeia leve (β_2 -microglobulina), mas ligam glicolipídeos em vez de peptídeos. Moléculas CD1 são sobretudo expressas nas DCs e apresentam o antígeno para o TCR invariante especializado das células NKT (CD4⁻CD8⁻). As moléculas CD1 são especialmente importantes para a defesa contra infecções por micobactérias.

Apresentação de Peptídeos pelas Moléculas do MHC de Classe I e Classe II

Ao contrário dos anticorpos que também podem reconhecer epítopos conformacionais, as células T só reconhecem peptídeos antigênicos lineares. Um antígeno para reconhecimento por célula T deve ser um peptídeo de 8 a 12 aminoácidos, com uma espinha dorsal hidrófoba que se liga à base da fenda molecular da molécula do MHC de classe I ou classe II, e exibe um epítopo de célula T do outro lado, para o TCR. Devido a essas restrições, pode haver apenas um peptídeo antigênico viável para as células T em uma proteína. Todas as células nucleadas processam proteoliticamente um conjunto de proteínas intracelulares e apresentam peptídeos selecionados às células T CD8 (via endógena de apresentação de antígeno) para distinção do "próprio" do "não próprio", expressão de proteínas inadequadas (células de tumor) ou a presença de infecções intracelulares. Também existe o processo de apresentação de peptídeos provenientes de proteínas ingeridas e processadas por APCs às células T CD4 (via exógena de apresentação de antígenos) (Fig. 9-7; Animação 9-3). As DCs podem cruzar essas duas rotas (apresentação cruzada) para apresentar antígeno exógeno para células T CD8 e iniciar respostas antivirais e antitumorais.

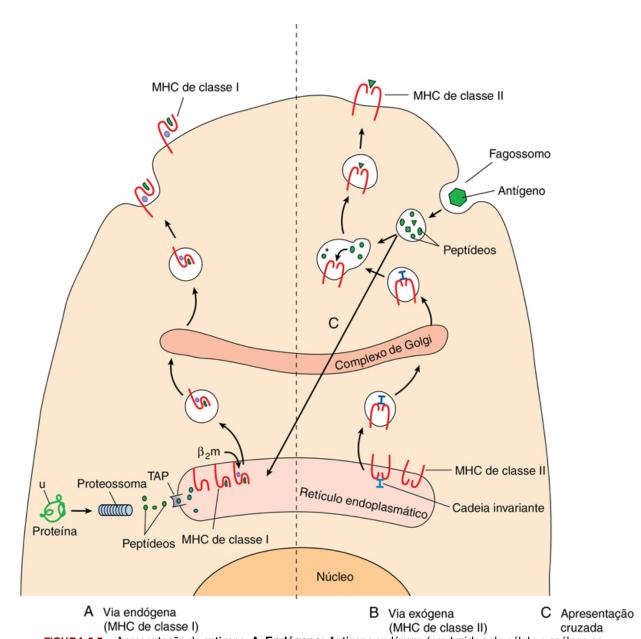


FIGURA 9-7 Apresentação do antígeno. A, Endógeno: Antígeno endógeno (produzido pela célula e análogo ao lixo celular) torna-se alvo de digestão no proteassoma por ligação à ubiquitina (u). Peptídeos de 8 a 9 aminoácidos são transportados para o retículo endoplasmático (*ER*), pelo transportador associado ao processamento de antígeno (*TAP*). No ER, o peptídeo se liga a uma cavidade na cadeia pesada do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I, e a β₂-microglobulina (β₂m) também se associa à cadeia pesada. O complexo é então deslocado pelo aparelho de Golgi e passado à superfície da célula para apresentação às células T CD8. B, Exógeno: As moléculas do MHC de classe II são montadas no ER e associadas a uma proteína de cadeia invariante que impede a aquisição de qualquer peptídeo endógeno presente no ER. Elas são transportadas em uma vesícula pelo aparelho de Golgi. O antígeno exógeno (fagocitado) é degradado nos lisossomos, os quais então se fundem com a vesícula que contém as moléculas do MHC de classe II. A cadeia invariante é degradada e deslocada pelos peptídeos de 11 a 13 aminoácidos, que se ligam à molécula do MHC de classe II. O complexo é então enviado para a superfície da célula, para apresentação às células T CD4. C, Apresentação cruzada: Antígeno exógeno entra no ER de células dendríticas e é apresentado em moléculas do MHC I para células T CD8.

As **moléculas do MHC de classe I** ligam e apresentam peptídeos degradados a partir de proteínas celulares pelo **proteassoma** (uma máquina de protease) presente no citoplasma. Esses peptídeos são transportados para o retículo endoplasmático (ER) pelo **transportador associado ao processamento de antígeno (TAP)**. A maioria desses peptídeos vem de proteínas deformadas ou em excesso (lixo), marcadas pela ligação com a proteína **ubiquitina**. O peptídeo antigênico se liga à cadeia pesada da molécula do MHC de classe I. Em seguida, a cadeia pesada do MHC se liga apropriadamente com a β_2 -microglobulina, deixando o ER e avançando para a membrana celular.

Durante uma **infecção viral**, grandes quantidades de proteínas virais são produzidas e degradadas em peptídeos e tornam-se a fonte predominante de peptídeos que ocupam as moléculas do MHC de classe I para serem apresentados às células T CD8. As **células transplantadas (enxertos)** expressam peptídeos nas suas moléculas do MHC, os quais diferem daqueles do hospedeiro e, portanto, podem ser reconhecidos como estranhos. As **células tumorais** expressam, muitas vezes, peptídeos derivados de proteínas anormais ou embrionárias. Essas últimas podem suscitar respostas do adulto, porque este não se tornou tolerante para elas. A expressão desses peptídeos "estranhos" ligados à molécula do MHC de classe I na superfície celular permite que a célula T "veja" o que está acontecendo no interior da célula.

As moléculas do MHC de classe II apresentam peptídeos de proteínas exógenas que foram adquiridos por macropinocitose, pinocitose ou fagocitose e degradados nos lisossomos pelas APCs. A molécula do MHC de classe II é também sintetizada no ER, mas, ao contrário do MHC I, a cadeia invariante associada ao MHC II bloqueia a fenda de ligação ao peptídeo, para previnir a aquisição de um peptídeo endógeno. O MHC II adquire seu peptídeo antigênico como resultado da fusão entre a via de transporte vesicular (que transporta a molécula do MHC de classe II recém-sintetizada) e a via de degradação lisossomal (que transporta proteínas fagocitadas e proteolisadas). A cadeia invariante é clivada e os peptídeos antigênicos a deslocam para associarem-se à fenda formada na molécula do MHC de classe II. Em seguida, o complexo é enviado para a superfície da célula.

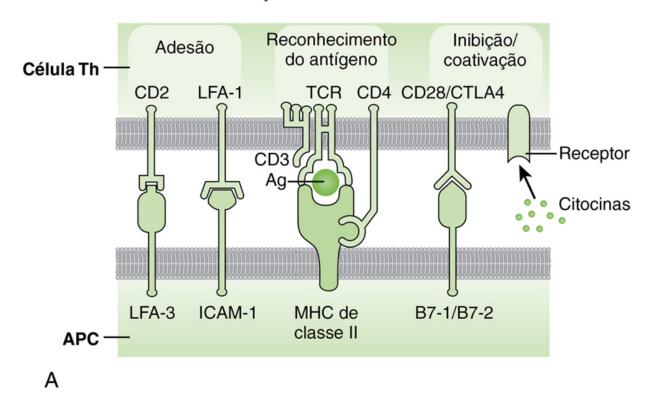
A apresentação cruzada de antígeno é utilizada principalmente pelas células dendríticas, que apresentam antígeno a células T CD8 *naïve*, para iniciar uma resposta a vírus e a células tumorais. Depois de captar os antígenos (incluindo detritos de células apoptóticas) na periferia, a proteína é degradada e seus peptídeos entram no citoplasma e, na sequência, são transportados pelo **transportador associado ao processamento de antígeno (TAP)** ao ER para se ligarem a moléculas do MHC I.

A seguinte analogia pode ajudar na compreensão da apresentação de antígeno: todas as células degradam sua proteína-"lixo" e, em seguida, apresentam "latas de lixo" na superfície da célula, sendo essas "latas de lixo" as proteínas do MHC de classe I. As células T CD8 que fazem o "policiamento" do bairro não são alarmadas com o normal, ou seja, com os peptídeos-"lixo" cotidianos. Um intruso viral, que produz grandes quantidades de peptídeo viral considerado "lixo" (p.ex., latas de cerveja, caixas de pizza), tem sua exibição para o sistema imune em "latas de lixo molecular", ou seja, MHC de classe I. Esse fato poderia alertar o policiamento de células T CD8 específicas que foram iniciadas por DCs. APCs (DCs, macrófagos e células B) são semelhantes aos coletores de lixo ou trabalhadores de águas residuais; eles devoram o lixo da vizinhança ou esgoto linfático, degradam-no e o exibem em moléculas do MHC de classe II. Depois, elas se movem para um linfonodo para apresentar os peptídeos antigênicos às células T CD4 na "delegacia de polícia". Antígenos estranhos poderiam alertar as células T CD4 para liberar citocinas e ativar uma resposta imune.

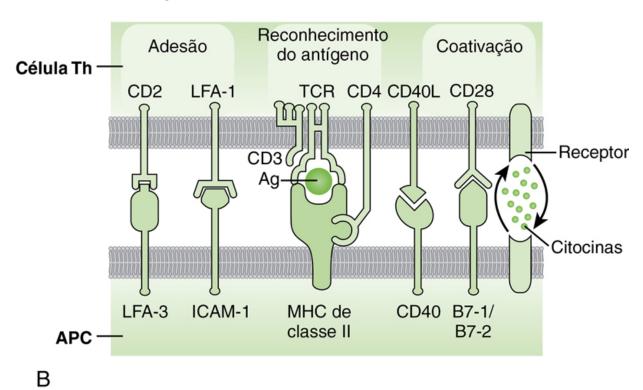
Ativação das Células T CD4 e sua Resposta ao Antígeno

A ativação das respostas de células T naïve é iniciada por DCs e, em seguida, expandida por outras APCs (Animação 9-4). As DCs ativadas têm braços semelhantes aos do polvo, com uma grande área de superfície (dendritos); produzem citocinas e têm uma superfície celular rica em moléculas do MHC para apresentar antígenos às células T. Os macrófagos e as células B podem apresentar antígenos às células T, mas não podem ativar uma célula T naïve para iniciar uma nova resposta imune. As células T CD4 auxiliares são ativadas pela interação do TCR com o peptídeo antigênico apresentado pelas moléculas do MHC de classe II na APC (Fig. 9-8A). A interação é reforçada pela ligação de CD4 à molécula do MHC de classe II e pela ligação de proteínas de adesão na célula T e na APC. Um sinal coestimulatório mediado pela ligação de moléculas B7 (presentes em macrófagos, células dendríticas ou células B-APC) com moléculas CD28 da célula T é necessário para induzir o crescimento da célula T. Esse sinal funciona como um mecanismo de segurança para garantir ativação legítima da célula T. A proteína B7 também interage com CTLA4, emitindo um sinal de inibição. APCs ativadas expressam B7 suficiente para ligar-se a todos os CTLA4 e, ainda assim, ligar-se também ao CD28. Sinais de citocinas (p.ex., IL-1, IL-2, IL-6) também são necessários para iniciar o crescimento e superar a supressão regulatória da célula. A ativação adequada da célula T auxiliar promove a produção de IL-2 e aumenta a expressão de IL-2R na superfície da célula, aumentando a própria capacidade da célula de ligar IL-2 e manter a ativação por essa citocina (Fig. 9-9). Uma vez ativada, a IL-2 sustenta o crescimento da célula, e outras citocinas influenciam a resposta subsequente da célula T auxiliar (veja seção seguinte). As células efetoras e células **T de memória** são geradas à medida que as células T se dividem (Fig. 9-9B).

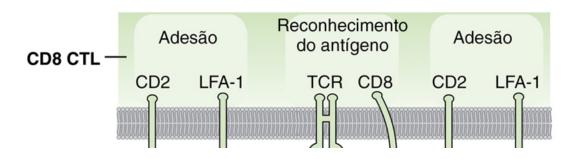
ATIVAÇÃO DA CÉLULA T CD4

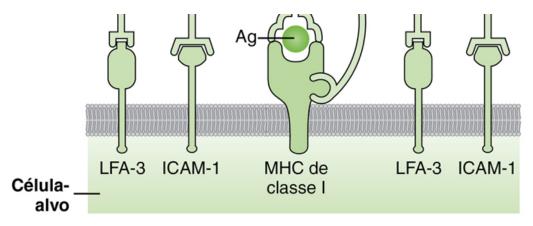


ATIVAÇÃO DA CÉLULA B OU APC PELA CÉLULA TH



RECONHECIMENTO DA CÉLULA-ALVO PELA CTL





C

FIGURA 9-8 As moléculas envolvidas na interação entre células T e células apresentadoras de antígenos (*APC*). **A**, Iniciação de uma resposta das células T CD4. A iniciação de uma resposta de células T CD8 é semelhante, mas CD8 e receptor de células T (*TCR*) interagem com as proteínas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) I e o peptídeo a este ligado. **B**, Células T auxiliares CD4 e a sua ligação a uma célula B, célula dendrítica ou macrófago. **C**, A ligação das células T CD8 à célula-alvo cria uma imunossinapse na qual a perforina e a granzima são secretadas. Interações receptor-ligante na superfície celular e citocinas são indicadas com a direção de sua ação. *Ag*, Antígeno; *CTLA-4*, proteína-4 associada ao linfócito T citotóxico; *ICAM-1*, molécula de adesão intercelular-1; *LFA-1*, antígeno-1 associado à função de leucócitos. (De Rosenthal KS, Tan M:Rapid reviews in microbiology and immunology, ed 3, Philadelphia, 2010, Elsevier.)

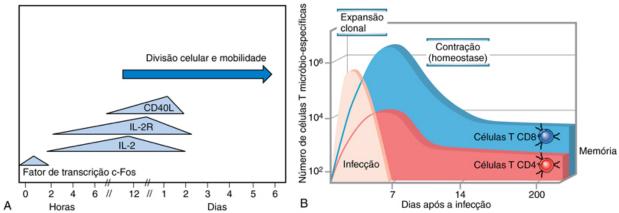


FIGURA 9-9 Progressão da ativação e resposta da célula T naïve. A, A interação com o antígeno e os correceptores da célula apresentadora de antígeno (APC) ativa a expressão de novos fatores de transcrição (*c-Fos*), da interleucina (*IL*)-2 e do IL-2R para promover o crescimento e do CD40L para ativar a APC. B, O número de células T CD4 ou CD8 aumenta rapidamente em resposta à infecção, após o que as células T ativadas entrarão em apoptose, deixando células T de memória. A ativação das respostas das células T de memória é mais rápida. (B, Modificado de Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al: Cellular and molecular immunology, ed 8, Philadelphia, 2015, Elsevier.)

A ativação parcial (interação do TCR com o peptídeo no MHC) de uma célula T CD4 sem coestimulação leva à **anergia** (falta de capacidade para responder) ou à morte por apoptose (suicídio celular). Esse é também um mecanismo para (1) eliminar as células T autorreativas no timo e (2) promover o desenvolvimento de **tolerância** a proteínas próprias. A anergia também pode resultar da ligação do B7 ao CTLA-4, em vez do CD28.

As células T CD4 ativadas e em crescimento expressam diferentes proteínas de adesão e novos receptores de quimiocinas; saem dos locais de células T no linfonodo e entram no sangue ou movem-se para zonas de células B nos linfonodos e no baço. Muitas das células T ativadas circulam pela pele e pelo epitélio mucoso. As APCs, que apresentam antígenos reconhecidos pelo TCR, iniciam interações estreitas com a célula T que permitem que as moléculas CD28 na célula T se liguem às moléculas B7 na APC. Tais interações, em seguida, estimulam a expressão de CD40L na célula T, que interage com o CD40 na APC, resultando em ativação recíproca da célula T e APC (Fig. 9-8B). Essa interação e as citocinas produzidas pela célula T vão ativar e determinar a função dos macrófagos e DCs, e que imunoglobulina a célula B vai produzir.

Funções das Células T CD4 Auxiliares

As células T CD4 promovem a expansão da resposta imune através da proliferação celular induzida por algumas citocinas e, também, definem a natureza da resposta através de outras. Os diferentes tipos de células Th são definidos pelas citocinas que elas secretam e, portanto, as respostas que elas induzem (Fig. 9-10 e Quadro 9-4; veja também a Tabela 9-1).

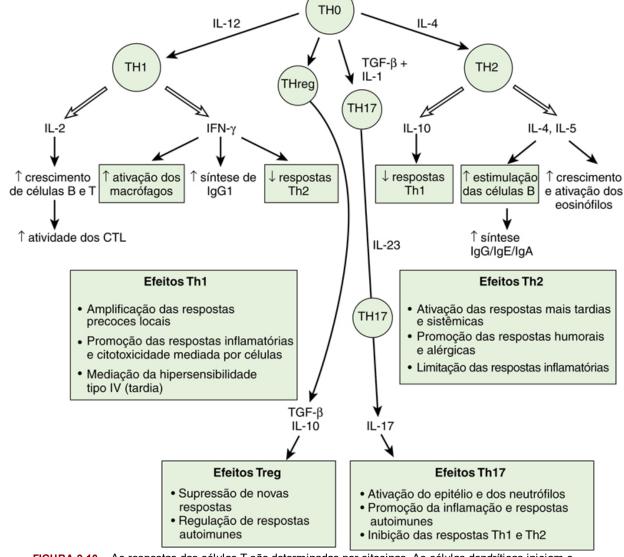


FIGURA 9-10 As respostas das células T são determinadas por citocinas. As células dendríticas iniciam e determinam o tipo de resposta das células T CD4 pelas citocinas que produzem. Da mesma forma, as células T determinam o que outras células farão através de suas citocinas. As respostas definidas pelas citocinas são indicadas. ↑, Aumento; ↓, diminuição; CTL, linfócito T citotóxico; IFN-y, interferon-y; IgG/IgE/IgA, imunoglobulina G/E/A; IL, interleucina; TGF-β, fator-β transformador do crescimento; Th, célula T auxiliar. (De Rosenthal KS, Tan M: Rapid reviews in microbiology and immunology, ed 3, Philadelphia, 2010, Elsevier.)



Quadro 9-4 espostas T Auxiliares e suas Citocinas

Células Th ativadas expressam CD40L para ativar as células B, macrófagos, e células dendríticas.

Células Th produzem citocinas estimulantes do crescimento e definidoras de resposta.

Citocinas estimulantes do crescimento: GM-CSF, IL-3

Th1: requer indução com IL-12

IFN-γ: ativa os macrófagos M1 (inflamatórios); promove a produção de IgG pelas células B; inibe Th2

IL-2: promove o crescimento de células T, B e NK

 $TNF-\alpha$ e \underline{TNF} : promovem inflamação e citotoxicidade

Th2: induzida pela IL-4

<u>IL-4</u>: fator de crescimento de células T, estimula a troca (*switch*) de classe de imunoglobulinas (IgG, IgE), ativação de mastócitos e de macrófagos M2 (alternativos)

<u>IL-5</u>: fator de crescimento de células B e eosinófilos, estimula a troca de classe de imunoglobulinas (IgG, IgA)

<u>IL-10</u>: fator de crescimento de células B e inibidor de Th1 e respostas inflamatórias

Th17: induzida por IL-1,TGF-β + IL-6; células Th17 de memória por IL-23

IL-17: ativa neutrófilos e monócitos

IL-22: estimula o epitélio a produzir peptídeos antimicrobianos

TFH: influenciada por citocinas Th1 ou Th2

<u>IL-21</u>: desenvolvimento do centro germinativo, desenvolvimento de plasmócitos e células B de memória

<u>IFN-</u> γ ou <u>IL-4</u>: ver anteriormente

Treg: requer IL-2

TGF-β: inibe a ativação de células T naïve e de outras células T, inibe inflamação

IL-10: ver anteriormente

DCs, células dendríticas; GM-CSF, fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos; IFN, interferon; Ig, imunoglobulina; IL, interleucina; TGF, fator transformador do crescimento; TNF, fator de necrose tumoral.

O papel primário das **células Th0** é ampliar a resposta imune pela produção de citocinas que promovem a proliferação dos linfócitos e ativam DCs, incluindo IL-2, interferon (IFN)-γ e IL-4. A **IL-2** promove o crescimento celular das células T, B e células linfoides inatas (incluindo células NK) para ampliar a resposta imunológica.

As respostas antibacterianas e antifúngicas iniciais são mediadas pelas células **Th17**. Estas são células T auxiliares CD4 estimuladas por IL-1, IL-6 em conjunto com o fator transformador do crescimento β (TGF β) ou pela IL-23, para a geração de células T de memória. A IL-23 é da família da citocina IL-12. A IL-23 e a IL-12 têm ambas uma subunidade p40, mas a IL-12 possui uma subunidade p35, enquanto a IL-23 tem uma subunidade p19. As células Th17 produzem citocinas (p.ex., IL-17, IL-22, IL-6, TNF- α) e quimiocinas pró-inflamatórias que ativam as células epiteliais e neutrófilos e promovem respostas inflamatórias. A resposta da Th17 fornece proteção em locais imunoprivilegiados tais como o olho, no qual existe uma abundância de TGF- β . Respostas Th17 estão associadas a doenças inflamatórias autoimunes mediadas por células, tais como a artrite reumatoide.

Em geral, a **resposta Th1 (o 1 significa** *precoce)* ocorre precocemente na vigência de uma infecção e ativa ambas as respostas celular e de anticorpo (humoral) (Animação 9-5). A ativação de respostas **Th1** requer **IL-12** produzida pelas DCs e macrófagos. Células Th1 são caracterizadas pela secreção de **IL-2**, **IFN-γ e TNF-β (linfotoxina [LT]).** O **IFN-γ**, também conhecido como **fator de ativação de macrófagos**, amplifica respostas Th1 ao promover a produção de IL-12, criando um ciclo autossustentável. O IFN-γ também promove a produção de IgG e inibe as respostas Th2. O **TNF-**β pode ativar neutrófilos. As células Th1 são inibidas por IL-4 e IL-10, citocinas produzidas por células Th2. As células Th1 ativadas também expressam o ligante **FasL**, que pode interagir com a proteína **Fas** nas células-alvo para promover apoptose (morte) das células-alvo, e o receptor para a quimiocina CCR5, que promove a sua realocação para os locais de infecção. O vírus da imunodeficiência humana (HIV) utiliza o receptor da quimiocina CCR5 como um correceptor, juntamente com o CD4, para iniciar a infecção de um indivíduo.

As respostas Th1 amplificam reações inflamatórias e reações locais de hipersensibilidade tardia (DTH) através da ativação de macrófagos, células NK e células T CD8 citotóxicas. Também expandem a resposta imune pela estimulação do crescimento de células B e T através da IL-2. Essas respostas Th1 são importantes para a eliminação de infecções intracelulares (p.ex., vírus, bactérias, parasitas) e fungos e para as respostas anti-tumorais, mas também estão associadas a doenças inflamatórias autoimunes mediadas por células (p.ex., esclerose múltipla, doença de Crohn).

A resposta Th2 (o 2 significa segundo) é a resposta-padrão das células T. Ocorre mais tarde na resposta à infecção e atua sistemicamente através de respostas mediadas por anticorpos. A resposta Th2 promove a produção de anticorpo para debris antigênicos no sistema linfático, o que ocorre na ausência de um sinal de IL-12/IFN-γ da resposta inata. As células Th2 liberam as citocinas IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10 que promovem respostas humorais (sistêmicas). Essas citocinas estimulam a célula B a se submeter a eventos de recombinação do gene de imunoglobulina, trocando a produção de IgM e IgD para produção de tipos e subtipos específicos de IgG, IgE ou IgA. As células Th2 estão associadas à produção de IgE, anticorpo útil nas respostas anti-helmínticas, mas também envolvido nas alergias. As células Th2 podem agravar uma infecção intracelular (p.ex., *Mycobacterium leprae* ou *Leishmania*) por prematuramente inibir a proteção fornecida pelas respostas Th1. O desenvolvimento de células Th2 é inibido pelo IFN-γ.

As **células T auxiliares foliculares (TFH)** residem nos folículos, que são as zonas de células B do linfonodo. Dependem das respostas de citocinas, quer Th1 ou Th2, para as células B promoverem a produção do anticorpo apropriado. Também propiciam o desenvolvimento dos centros germinativos, que são focos de geração de células de memória específicas, plasmócitos e produção de anticorpos.

As **células Treg que expressam CD4**⁺ **CD25**⁺ são células supressoras/reguladoras antígeno-específicas. Essas células previnem o desenvolvimento de respostas autoimunes e a ativação desnecessária através da produção de TGF-β e IL-10, ajudando a manter as respostas das células T sob controle e promover o desenvolvimento de células de memória. As células Treg são especialmente importantes para regular as respostas contra a flora normal na pele e no trato gastrointestinal. Outras respostas Th (p.ex., Th9 e Th22) têm sido descritas, e os seus nomes referem-se à citocina primária que produzem ou às funções promovidas pela citocina.

Células T CD8

As **células T CD8** incluem os linfócitos T citotóxicos **(CTLs)**, mas também podem produzir citocinas e influenciar as respostas imunes. As CTLs fazem parte da resposta Th1 e são importantes para eliminar células infectadas com vírus e células tumorais. Liberam proteínas que induzem a célula-alvo a entrar em apoptose.

A resposta por CTL é iniciada quando as células T CD8 *naïve* que estão no linfonodo são ativadas por antígenos apresentados por DC e citocinas produzidas por células T CD4 Th1, incluindo IL-2 (semelhante à ativação de células T CD4,

mas com MHC I interagindo com CD8, como na Fig. 9-8A). A DC pode ter adquirido o antígeno como resultado de uma infecção viral ou por apresentação cruzada de um antígeno adquirido no local da infecção ou tumor antes da maturação. As células T CD8 ativadas dividem-se e diferenciam-se em CTLs maduras que se disseminam através do sangue. Durante uma infecção viral, o número de CTLs específicas aumenta até 100.000 vezes. Quando as CTLs ativadas encontram uma célulaalvo, ligam-se firmemente através de interações do TCR com o antígeno presente nas proteínas do MHC de classe I e moléculas de adesão em ambas as células (ocorre algo semelhante ao fechamento de um zíper). Grânulos contendo moléculas tóxicas, granzimas (esterases) e uma proteína formadora de poros (perforina) movem-se para o local da interação intercelular e liberam o seu conteúdo para uma espécie de "bolsa" (sinapse imune) formada entre a célula T e a célula-alvo. A perforina gera poros na membrana da célula-alvo para permitir que o conteúdo dos grânulos entre e induza a apoptose (morte celular programada) na célula-alvo. As células T CD8 podem também iniciar a apoptose em células-alvo pela interação do FasL na célula T com a proteína Fas na superfície da célula-alvo. FasL é um membro da família de proteínas TNF e Fas é um membro da família do receptor de TNF. A apoptose é caracterizada pela degradação do DNA da célula-alvo em fragmentos de cerca de 200 pares de bases e também pela ruptura das membranas internas. As células encolhem, transformando-se em corpos apoptóticos que são rapidamente fagocitados por macrófagos e células dendríticas. A apoptose é um processo de morte celular programada considerado "limpo", ao contrário da necrose, que gera sinais para a ação de neutrófilos, levando a danos teciduais. As células T CD4 Th1 e NK também expressam FasL e podem iniciar a apoptose em células-alvo.

As células T supressoras provêm regulação antígeno-específica da função das células T auxiliares através de citocinas inibitórias e outros meios. Como as CTLs, as células T supressoras interagem com moléculas do MHC de classe I.

Células NKT

As células NKT são como um híbrido entre as células NK e as células T. Elas expressam um marcador de células NK, NK1.1 e um TCR α/β . Ao contrário de outras células T, o repertório de TCR é muito limitado. Elas podem expressar CD4, mas a maioria não expressa as moléculas CD4 e CD8 (CD4⁻CD8⁻). O TCR, da maioria das células NKT, reage com moléculas CD1 que apresentam glicolipídeos microbianos e glicopeptídeos. Após a ativação, as células NKT liberam grandes quantidades de IL-4 e IFN- γ . As células NKT auxiliam nas respostas iniciais à infecção e são muito importantes para a defesa contra infecções por micobactérias.

Células B e Imunidade Humoral

O componente molecular primário da resposta imune humoral é o anticorpo produzido pelas células B e plasmócitos. Os anticorpos proporcionam proteção contra uma reexposição a um agente infeccioso, bloqueando a propagação desse agente no sangue, neutralizando fatores de virulência e facilitando a sua eliminação. Para realizar essas tarefas, um repertório incrivelmente grande de moléculas de anticorpos deve estar disponível para reconhecer o enorme número de agentes infecciosos e moléculas existentes que desafiam os nossos corpos. Além de interagir de modo específico com estruturas estranhas, as moléculas de anticorpo devem também interagir com os sistemas do hospedeiro e suas células (p.ex., complemento, macrófagos) para promover a remoção do antígeno e a ativação das respostas imunes subsequentes (Quadro 9-5). As moléculas de anticorpo também funcionam como receptores de superfície celular que estimulam o crescimento das células B produtoras de anticorpos apropriadas, bem como a produção de mais anticorpos, em resposta a um antígeno específico.



Quadro 9-5 Ações Antimicrobianas dos Anticorpos

São opsoninas: promovem a fagocitose e destruição dos microrganismos por células fagocitárias (imunoglobulina [Ig]G) Neutralizam (por bloqueio da adesão) toxinas, bactérias e vírus

Aglutinam bactérias: podem auxiliar na remoção

Imobilizam os microrganismos móveis

Combinam-se com antígenos na superfície microbiana e ativam a cascata do complemento, induzindo, dessa forma, uma resposta inflamatória, trazendo fagócitos novos e anticorpos séricos para o local

Combinam-se com antígenos na superfície microbiana e ativam a cascata do complemento, ancorando o complexo de ataque à membrana, envolvendo de C5b a C9.

Tipos de Imunoglobulinas e suas Estruturas

As imunoglobulinas são compostas de, pelo menos, duas cadeias pesadas e duas cadeias leves, formando assim um dímero de dímeros. Elas são classificadas em classes e subclasses, com base nas suas estruturas e distinção antigênica das suas cadeias pesadas. IgG, IgM e IgA são as principais formas de anticorpos, ao passo que IgD e IgE constituem menos de 1% do total das imunoglobulinas. As classes de imunoglobulina IgA e IgG são divididas ainda em subclasses com base em

diferenças na porção Fc. Existem quatro subclasses de IgG, designadas IgG1 até IgG4, e duas subclasses de IgA (IgA1 e IgA2) (Fig. 9-11).

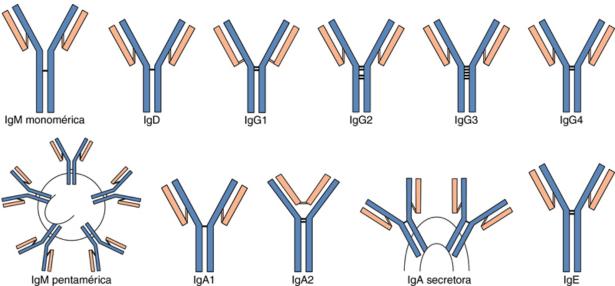


FIGURA 9-11 Estruturas comparativas das classes e subclasses de imunoglobulinas em seres humanos. Monômeros de IgA e IgM são mantidos juntos em multímeros pela cadeia J. A IgA adquire o componente secretor para a travessia das células epiteliais.

As moléculas de anticorpo são moléculas em forma de Y com duas regiões estruturais principais, que viabilizam as duas principais funções da molécula (Tabela 9-2; ver também Fig. 9-11). O ponto da região-variável/combinação do antígeno deve ser capaz de identificar e interagir especificamente com um epítopo em um antígeno. Um grande número de diferentes moléculas de anticorpos, cada uma com uma região variável diferente, é produzido em cada indivíduo para reconhecer o número quase infinito de diferentes antígenos na natureza. Já a porção Fc (haste do Y do anticorpo) interage com os sistemas e células do hospedeiro, para promover a remoção do antígeno e ativação de respostas imunes subsequentes. A porção Fc é responsável pela fixação do complemento e, também, pela ligação da molécula a receptores de imunoglobulina presentes na superfície de várias células (FcR), tais como macrófagos, células NK, células T e outras células, para geração de diferentes respostas imunológicas. A porção Fc interage ainda com outras proteínas para promover a transferência de IgG e de IgA através da placenta e da mucosa, respectivamente (Tabela 9-3). Além disso, cada um dos diferentes tipos de anticorpos pode ser sintetizado com uma porção transmembrana, para torná-lo um receptor de antígenos na superfície celular.



Propriedades e Funções das Imunoglobulinas

Propriedades e Funções	IgM	IgD	IgG	IgE	IgA
Cadeia pesada	μ	δ	γ	ε	α
Subclasses			Υ1, Υ2, Υ3, Υ4		α_1, α_2
Peso molecular (kDa)	900	185	154	190	160
% Imunoglobulina no soro	5–10	< 1	75–85	< 1	5–15
Meia-vida (dias)	5	2–3	23	2–3	6
Requer célula T	Independente	Independente	Dependente	Dependente	Dependente
Tempo/memória	Precoce, primária	Precoce, primária	Tardia, memória	Tardia, memória	Tardia, memória
Complemento	++	-	++	_	_
Opsonização	*	_	++	_	_
ADCC	++	_	++	_	_
Atravessa a placenta	_	_	++	_	_
Protege a mucosa	+	_	+†	-	+++
Ativa mastócitos	_		_	+++	_

ADCC, Citotoxicidade celular dependente de anticorpo.

[†] Transportada pelo receptor neonatal de Fc.



Tabela 9-3

Interações da Porção Fc com Componentes Imunes

Componente Imune	Interação	Função
Receptor Fc	Macrófagos	Opsonização
	Neutrófilos polimorfonucleares	Opsonização
	Células T	Ativação
	Células <i>natural killer</i> (citotoxicidade celular dependente de anticorpo)	Morte
	Mastócitos para imunoglobulina (Ig)E	Reações alérgicas, antiparasitárias
	Receptor neonatal de IgG	Transporte através das membranas capilares
Complemento	Sistema complemento	Opsonização, morte (especialmente bactérias), ativação da inflamação

IgG e IgA têm uma **região em dobradiça** flexível, rica em prolina e susceptível à clivagem por enzimas proteolíticas. A digestão de moléculas de IgG com **papaína** produz dois fragmentos **Fab** e um fragmento **Fc** (**Fig.** 9-12). Cada fragmento Fab possui um ponto de ligação para o antígeno. A **pepsina** cliva a molécula, produzindo um fragmento **F(ab')**₂ com dois pontos de ligação para o antígeno e um fragmento **pFc'**.

^{*} Opsoniza pela fixação do complemento.

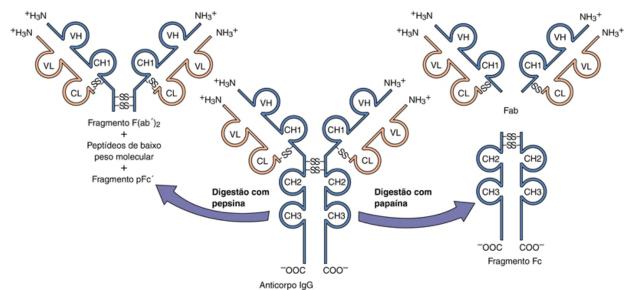


FIGURA 9-12 Digestão proteolítica de imunoglobulina (*Ig*)G. O tratamento com pepsina produz um fragmento dimérico F(ab')₂. O tratamento com papaína produz fragmentos Fab monovalentes e um fragmento Fc. O F(ab')₂ e os fragmentos Fab se ligam ao antígeno, mas não têm uma região Fc funcional. A cadeia pesada é representada em azul; a cadeia leve, em laranja.

Os diferentes tipos e porções das imunoglobulinas também podem ser distinguidos pela utilização de anticorpos dirigidos contra diferentes partes da molécula. **Isótipos (IgM, IgD, IgG, IgA, IgE)** são determinados por anticorpos dirigidos contra a porção Fc da molécula (*iso* significa que é o mesmo para todos os indivíduos). Diferenças **alotípicas** (*alo* significa que pode ser diferente de indivíduo para indivíduo) ocorrem em moléculas de anticorpo do mesmo isótipo, mas que contêm sequências de proteínas que diferem de uma pessoa para outra (além da região de ligação ao antígeno). O **idiótipo** refere-se às sequências de proteínas na região variável que compreende o grande número de regiões de ligação ao antígeno. (*Existem muitos idiótipos diferentes.*)

Cada molécula de anticorpo é constituída por cadeias pesadas e leves, codificadas por genes separados. A unidade básica de imunoglobulina consiste em duas cadeias pesadas (H) e duas cadeias leves (L). IgM e IgA consistem em multímeros dessa estrutura básica. As cadeias pesadas e leves de imunoglobulina são mantidas juntas através de pontes dissulfeto intercadeias. Existem dois tipos de cadeias leves $-\kappa$ e λ - que estão presentes em todas as cinco classes de imunoglobulinas, embora apenas um tipo esteja presente em uma molécula individual. Cerca de 60% das moléculas de imunoglobulinas humanas têm cadeias leves κ , e 40% têm cadeias leves λ . Existem cinco tipos de cadeias pesadas, uma para cada isótipo de anticorpo (IgM, μ ; IgG, γ ; IgD, δ ; IgA, α e IgE, ϵ). As pontes dissulfeto intracadeias definem os domínios moleculares dentro de cada cadeia. As cadeias leves têm um domínio variável e um constante. As cadeias pesadas possuem um domínio variável e três (IgG, IgA) ou quatro (IgM, IgE) domínios constantes. Os domínios variáveis das cadeias pesadas e leves interagem para formar o ponto de ligação ao antígeno. Os domínios constantes de cada cadeia compõem a porção Fc, fornecem a estrutura molecular da imunoglobulina e definem a interação da molécula de anticorpo com os sistemas hospedeiros, exercendo então a sua função final. As cadeias pesadas dasdiferentes moléculas de anticorpo também podem ser sintetizadas com uma região de adaptação à membrana para fazer do anticorpo um receptor de superfície celular antígeno-específico, na célula B.

Imunoglobulina D

A IgD, que tem uma massa molecular de 185 kDa, representa menos de 1% das imunoglobulinas séricas. A IgD existe principalmente como IgD de membrana que, assim como a IgM, serve como um receptor de antígeno nas membranas de células B precoces para ajudar a iniciar as respostas de anticorpos pela ativação do crescimento dessas células. IgD e IgM são os únicos isótipos que podem ser expressos em conjunto pela mesma célula.

Imunoglobulina M

A IgM é o primeiro anticorpo produzido em resposta ao antígeno e pode ser produzido de forma independente da participação da célula T. A IgM representa de 5% a 10% do total das imunoglobulinas em adultos e tem uma meia-vida de 5 dias. Ela é uma molécula pentamérica, com cinco unidades de imunoglobulinas ligadas por uma cadeia J, totalizando uma massa molecular de 900 kDa. Teoricamente, essa imunoglobulina tem 10 pontos de ligação para o antígeno. A IgM é a imunoglobulina mais eficiente para a fixação (ligação) do complemento. Um único pentâmero de IgM pode ativar a via clássica do complemento. A IgM monomérica é encontrada junto da IgD na superfície das células B, onde serve como receptor para o antígeno. Como a IgM é relativamente grande, não é eficaz em passar para os tecidos e, por isso, permanece no sangue. Essa imunoglobulina é particularmente importante para a imunidade contra os antígenos polissacarídicos presentes no exterior dos microrganismos patogênicos. Ela também promove a fagocitose e a lise bacteriana por ativação do

sistema complemento através de sua porção Fc. A IgM também é o componente principal dos fatores reumatoides (autoanticorpos).

Imunoglobulina G

A IgG compreende cerca de 85% das imunoglobulinas totais presentes nos adultos. Tem uma massa molecular de 154 kDa devido às duas cadeias L de 22.000 Da cada e duas cadeias H de 55.000 Da cada. As quatro subclasses de IgG diferem em estrutura (Fig. 9-11), concentração relativa e função. A produção de IgG requer a participação das células T. A IgG, como uma classe de moléculas de anticorpo, tem a meia-vida mais longa (23 dias) entre as cinco classes de imunoglobulinas, ligase ao receptor de Fc neonatal e é transportada através da placenta e de outras determinadas membranas. Este é o principal anticorpo na **resposta anamnéstica (reforço**, do inglês, *booster*). IgG mostra alta avidez (capacidade de ligação) para antígenos, fixa complemento, estimula a quimiotaxia e atua como uma opsonina, facilitando a fagocitose.

Imunoglobulina A

A IgA compreende 5% a 15% das imunoglobulinas totais presentes no soro e tem uma meia-vida de 6 dias. Tem uma massa molecular de 160 kDa e uma estrutura básica monomérica de quatro cadeias. No entanto, pode ocorrer como monômeros, dímeros, trímeros e multímeros combinados pela cadeia J (semelhante à IgM). Além de estar presente no soro, a **IgA secretora** aparece nas secreções corporais. A produção de IgA requer a participação de células T especializadas e estimulação da mucosa. A cadeia J da IgA liga-se a um **receptor poli-Ig** nas células epiteliais para o seu transporte através da célula. O receptor poli-Ig permanece ligado à IgA e é então clivado para se tornar o **componente secretor**, quando a IgA secretora é secretada a partir da célula. Um adulto secreta aproximadamente 2 g de IgA por dia. A IgA secretora aparece no colostro, secreções intestinais e respiratórias, saliva, lágrimas, fezes e outras secreções. Indivíduos com deficiência de IgA têm uma maior incidência de infecções do trato respiratório.

Imunoglobulina E

A IgE é responsável por menos de 1% do total de imunoglobulinas e tem uma meia-vida de aproximadamente 2,5 dias. A maioria das IgE se liga aos receptores de Fc em **mastócitos** e, nesta célula, serve como um receptor para os alérgenos e para antígenos de parasitas. Quando uma quantidade suficiente de antígeno se liga na IgE do mastócito, este libera histamina, prostaglandinas, fator ativador de plaquetas e citocinas. A IgE é importante para a proteção contra infecções parasitárias e é responsável pela **hipersensibilidade anafilática** (tipo 1) (reações alérgicas rápidas).

Imunogenética

A resposta imune via anticorpos pode reconhecer pelo menos 10⁸ estruturas, mas ainda pode ampliar e focar especificamente uma resposta dirigida a um estímulo específico. Os mecanismos para gerar esse repertório de anticorpos e as diferentes subclasses de imunoglobulinas são vinculados a eventos genéticos aleatórios que acompanham o desenvolvimento (diferenciação) de células B (Fig. 9-13).

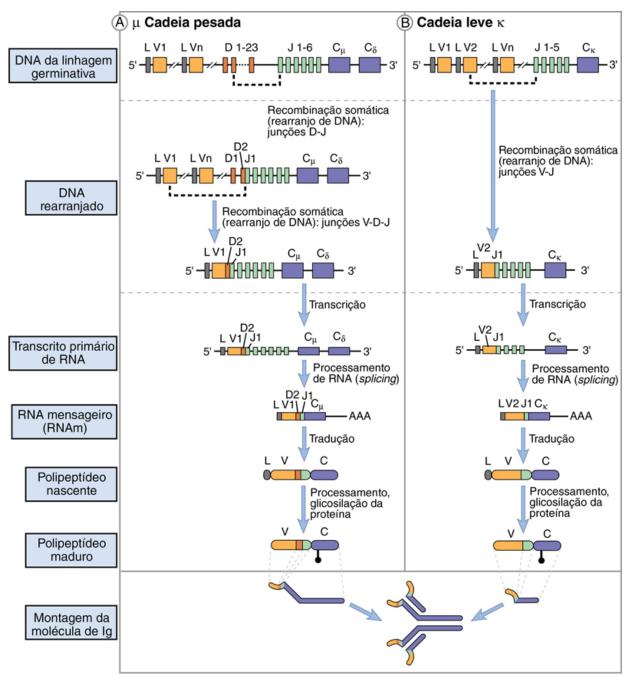


FIGURA 9-13 Rearranjo do gene de imunoglobulina para a produção de IgM (**A**, sequências de cadeia pesada; e **B**, sequências de cadeia leve). O gene de imunoglobulina da linhagem germinativa contém múltiplos genes V, D e J que se recombinam, eliminando sequências intervenientes e justapondo sequências da região variável às sequências μ-δ da cadeia pesada, durante o desenvolvimento das células B na medula óssea. A célula T auxiliar induz a diferenciação da célula B e promove a recombinação gênica e a troca de classe de imunoglobulina. A troca de regiões, à frente dos genes da região constante (incluindo as subclasses de IgG), permite a ligação da região VDJ pré-formada aos outros genes da região constante da cadeia pesada, removendo geneticamente os genes μ, δ e outros genes intervenientes. Isso produz um gene de imunoglobulina com a mesma região VDJ (exceto para mutação somática), mas diferentes genes de cadeia pesada. O processamento (*splicing*) do RNA mensageiro (RNAm) produz os RNAm finais de IgM e IgD.

Os cromossomos humanos 2, 22 e 14 contêm os genes para as cadeias de imunoglobulinas κ , λ , e H, respectivamente. O formato desses genes na **linhagem germinativa** consiste de conjuntos diferentes e separados de blocos de construção genéticos para as cadeias leves (**segmentos gênicos V e J**) e cadeias pesadas (**segmentos gênicos V, D e J**), que são geneticamente recombinados para produzir as regiões variáveis das imunoglobulinas. Essas regiões variáveis são, então, conectadas aos segmentos gênicos da região constante C. Para a cadeia leve κ , existem 300 segmentos gênicos V, 5 segmentos gênicos J e apenas um segmento gênico C. O número de segmentos gênicos para V e J da cadeia λ é mais limitado. Para a cadeia pesada, existem 300–1.000 segmentos gênicos V, 12 segmentos gênicos D e 6 segmentos gênicos J, mas apenas 9 segmentos gênicos C (um para cada classe e subclasse de imunoglobulina [μ ; δ ; γ_1 , γ_2 , γ_3 e γ_4 ; ε ; α_1 e α_2]). Além disso, os segmentos gênicos para os peptídeos-transmembrana podem ser ligados aos segmentos gênicos de cadeia pesada para permitir que a molécula de anticorpo seja inserida na membrana da célula B, tal como um receptor ativado pelo antígeno.

A produção da molécula de imunoglobulina na célula pré-B ocorre na medula óssea. A recombinação genética no nível do ácido desoxirribonucleico (DNA) e o processamento pós-transcricional no nível do ácido ribonucleico (RNA) monta o

gene de imunoglobulina e produz o RNA mensageiro (RNAm) funcional (Fig. 9-13). Cada um dos segmentos V, D e J está rodeado por sequências de DNA que promovem a **recombinação direcional** e **perda das sequências intervenientes de DNA**. A enzima produzida pelo **gene RAG** é essencial para a recombinação desses segmentos. Os nucleotídeos inseridos aleatoriamente nos locais de junção conectam as duas fitas (de DNA), o que pode aumentar a diversidade de sequências ou inativar o gene, caso se interrompa a estrutura de leitura para o RNAm subsequente. O segmento gênico da cadeia leve é produzido pela justaposição aleatória dos segmentos gênicos κ ου λ V e J; e o segmento gênico da região variável da cadeia pesada é produzido pela justaposição dos segmentos gênicos V, D e J. Essas reações de recombinação são análogas ao procedimento de juntar e costurar estampas semelhantes a partir de uma longa amostra de tecido com várias diferentes estampas e, em seguida, cortar os pedaços de tecido extra.

O gene completo da cadeia pesada é produzido pela ligação das sequências da região variável (VDJ) por recombinação às sequências μ ; δ ; γ_3 , γ_1 , γ_2 , e γ_4 ; ϵ ; ou α_1 e α_2 dos segmentos gênicos da região constante (C). Nas células pré-B e B imaturas, os RNAm são produzidos e contêm os segmentos gênicos da região variável conectados às sequências gênicas C para μ e δ . No processamento do RNAm, ocorre a remoção de μ ou de δ , como se fosse um íntron, para produção do RNAm final da imunoglobulina. A célula pré-B expressa IgM citoplasmática, enquanto a célula B expressa IgM citoplasmática, além de IgM e IgD na superfície celular. IgM e IgD são o único par de isótipos que podem ser expressos simultaneamente na mesma célula.

A mudança de classe de imunoglobulina (IgM para IgG, IgE ou IgA) ocorre em células B maduras, em resposta a diferentes citocinas produzidas pelas células T auxiliares Th1 ou Th2 CD4 (Fig. 9-14). Cada um dos segmentos gênicos C, exceto δ , é precedido por uma sequência de DNA denominada ponto de mudança. Depois do sinal da citocina apropriada, a sequência do ponto de mudança à frente da sequência μ se recombina com a sequência do ponto de mudança à frente das sequências γ_3 , γ_1 , γ_2 , ou γ_4 ; ϵ ; α_1 ou α_2 , criando uma alça de DNA que é subsequentemente removida. O processamento do transcrito de RNA produz o RNAm final para a cadeia pesada da imunoglobulina. Por exemplo, a produção de IgG1 resultaria da excisão do DNA contendo os segmentos gênicos $C\mu$, $C\delta$ e $C\gamma_3$ para ligar a região variável ao segmento $C\gamma_1$. A mudança de classe altera a função da molécula de anticorpo (região Fc), mas não muda a sua especificidade (região variável).

CADEIA PESADA DA IMUNOGLOBULINA

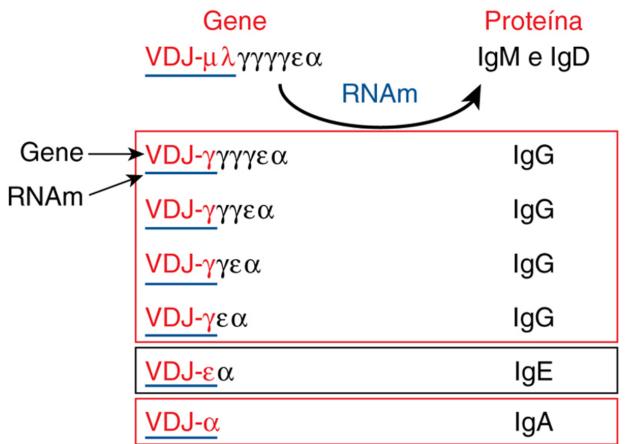


FIGURA 9-14 Mudança de classe de imunoglobulinas. A porção VDJ recombina-se com diferentes genes de cadeia pesada, deletando as sequências intervenientes, para produzir um gene para um anticorpo com especificidade antigênica desejada, mas com diferentes funções determinadas pela porção Fc.

As etapas finais do processo de diferenciação das células B para células de memória ou plasmócitos não alteram o gene do anticorpo. As **células de memória** são células B de vida longa, antígeno-reativas e expressam o marcador de superfície CD45RO. As células de memória podem ser ativadas em resposta ao antígeno, futuramente no decorrer da vida, para se dividirem e produzirem o anticorpo específico contra o antígeno que as originou. Os **plasmócitos** são células B diferenciadas terminalmente, que apresentam um pequeno núcleo mas grande citoplasma preenchido com retículo endoplasmático. Os plasmócitos são fábricas de anticorpos com uma vida finita.

Resposta de Anticorpos

As células B que melhor reconhecem os diferentes epítopos do antígeno são selecionadas para aumentar em número, um processo denominado **expansão clonal**. As células B produtoras de anticorpos antígeno-específicos são selecionadas e ativadas pela ligação dos antígenos às imunoglobulinas de superfície. O anticorpo de superfície celular age como um receptor para o antígeno, desencadeando a ativação da célula B através de seus receptores associados de transdução de sinal, Ig-α (CD79a) e Ig-β (CD79b). Uma cascata de proteínas tirosina-quinase, fosfolipase C e fluxos de cálcio ativam a transcrição e o crescimento celular para mediar o sinal de ativação. Outras moléculas de superfície, incluindo o CR2 (CD21) receptor de complemento (C3d), amplificam o sinal de ativação. A combinação desses sinais desencadeia a proliferação e aumenta o número de células que produzem anticorpos para o antígeno específico (Animação 9-6).

Os antígenos T-independentes, tais como a flagelina e polissacarídeo capsular, têm estruturas repetitivas que podem ligar de forma cruzada um número suficiente de anticorpo de superfície para estimular o crescimento de células B produtoras de IgM e IgD específicas para o antígeno. A ligação do componente C3d do complemento ao seu receptor (CR2, CD21) facilita a ativação da resposta de anticorpos. Por outro lado, a produção de anticorpos para antígenos T-dependentes utiliza as células dendríticas foliculares como painéis informativos, para expor múltiplas unidades do antígeno ao anticorpo de superfície, e requer a ajuda de células T CD4, que ocorre pela ligação de CD40L (na célula T) ao CD40 (na célula B) e pela ação de citocinas. Diferentes combinações de citocinas induzem a troca de classe de imunoglobulina. As respostas Th1 auxiliares (IFN-γ) promovem a produção de IgG. As respostas Th2 auxiliares (IL-4, IL-5) promovem a produção de IgG, IgE e IgA. A produção de IgA é especialmente promovida por IL-5 e TGF-β (Fig. 9-15).

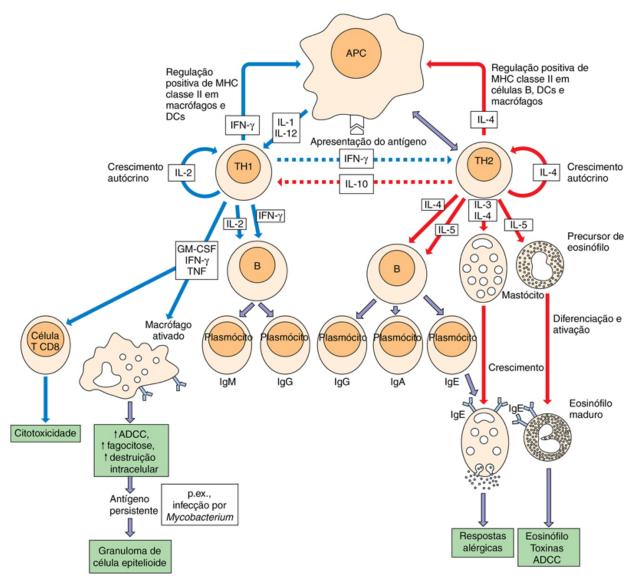


FIGURA 9-15 Células T auxiliares determinam a natureza da resposta imune. As interações receptor-ligante entre as células T, as células B e as citocinas associadas a Th1 ou Th2 determinam a resposta subsequente. As respostas Th1 são iniciadas por interleucina (*IL*)-12 e propagadas pelo interferon-γ (*IFN*-γ) e IL-2, para promover resposta mediada por células e produção de imunoglobulina (*Ig*)G (*Iinhas azuis sólidas*), e inibem as respostas Th2 (*Iinhas azuis tracejadas*). As citocinas IL-4 e IL-5, liberadas por células Th2, promovem respostas humorais (*Iinhas vermelhas sólidas*); e IL-4 e IL-10 inibem as respostas Th1 (*Iinhas vermelhas tracejadas*). O epitélio da mucosa promove a produção de IgA secretora. As caixas coloridas indicam os resultados finais. ↑, Aumento, ↓, diminuição; *ADCC*, citotoxicidade celular dependente de anticorpos; *APC*, células apresentadoras de antígeno; *CTL*, linfócito T citotóxico; *DC*, células dendríticas; *DTH*, hipersensibilidade tardia; *GM-CSF*, fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos; *TNF*, fator de necrose tumoral.

A **expansão clonal** das células B ativadas com antígeno específico ocorre nos centros germinativos com a ajuda de células T auxiliares foliculares (Animação 9-7). A estimulação do crescimento de células B também promove *mutação somática da região variável, aumentando a diversidade das moléculas de anticorpo* dirigidas ao antígeno específico. Os clones de células B que expressam anticorpos com a mais forte ligação ao antígeno são preferencialmente estimulados. Isso seleciona uma melhor resposta de anticorpos. Em última análise, o processo gera células B de memória; e a fábrica de excelência de anticorpos, o plasmócito.

Com um aumento no número dos plasmócitos que produzem o anticorpo relevante, a força e a especificidade da resposta de anticorpos também aumenta. Durante uma resposta imune, os anticorpos são produzidos contra diferentes epítopos do elemento estranho, proteína ou agente infeccioso. *Os anticorpos específicos constituem uma mistura de muitas moléculas de imunoglobulinas diferentes produzidas por diferentes células B* (anticorpo policional), sendo que cada molécula de imunoglobulina difere no epítopo que reconhece e na força de interação. As moléculas de anticorpos que reconhecem o mesmo antígeno podem se ligar a ele com diferentes intensidades (afinidade, ligação monovalente a um epítopo; avidez, ligação multivalente do anticorpo ao antígeno).

Os anticorpos monoclonais são anticorpos idênticos produzidos por um único clone de células ou por mielomas (tumores de plasmócitos) ou hibridomas. Os hibridomas são células clonadas, desenvolvidas em laboratório e obtidas pela fusão de células do baço produtoras de anticorpo e células de mieloma. Em 1975, Kohler e Millstein desenvolveram a técnica para a produção de anticorpos monoclonais a partir de hibridomas de células B. O hibridoma é imortal e produz um

único anticorpo (monoclonal). Essa técnica revolucionou o estudo da imunologia, pois permite a seleção (clonagem) de células produtoras de anticorpos individuais e sua transformação em "células-fábricas" para a produção de grandes quantidades de anticorpo. Os anticorpos monoclonais têm sido produzidos comercialmente como reagentes para fins diagnósticos e terapêuticos.

Curso Temporal (ou Cinética) da Resposta de Anticorpos

A resposta primária de anticorpos é caracterizada pela produção inicial de anticorpos IgM. Os anticorpos IgM aparecem no sangue no prazo de três dias a duas semanas após a exposição a um novo imunógeno. Esse é o único tipo de anticorpo formado contra carboidratos (cápsula bacteriana). A produção de IgG, IgA ou IgE exige o desenvolvimento de uma resposta de células T auxiliares suficiente para promover a troca de classe e requer cerca de oito dias. O anticorpo predominante no soro vai ser a IgG (Fig. 9-16). Os primeiros anticorpos produzidos reagem contra antígenos residuais e, consequentemente, são rapidamente eliminados. Após a fase *lag* inicial, no entanto, o título de anticorpos aumenta exponencialmente até atingir um patamar. A IgG tem uma meia-vida no sangue de 23 dias, e os plasmócitos, com vida longa, podem continuar produzindo os anticorpos durante anos, dependendo da força e da natureza do desafio.

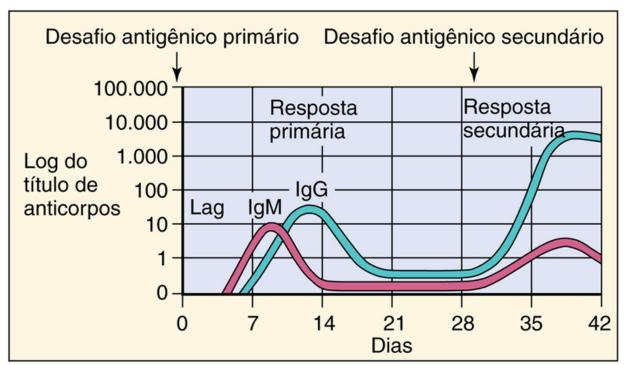


FIGURA 9-16 Linha do tempo das respostas de anticorpos. A resposta primária ocorre após um período de latência (*lag*). A resposta de imunoglobulina (*lg*)M é a primeira resposta. A resposta imune secundária (resposta anamnéstica) atinge um título superior, dura mais tempo e é constituída predominantemente por IgG.

A reexposição a um imunógeno desencadeia uma **resposta secundária**, com produção aumentada de anticorpos (também denominada **resposta anamnéstica**). A ativação de células de memória pré-formadas origina uma produção muito mais rápida do anticorpo, que tem uma duração mais longa e atinge um título mais elevado. Os anticorpos de uma resposta secundária são principalmente da classe IgG.

Referências Bibliográficas

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al. Cellular and molecular immunology. ed 6 Philadelphia: Saunders; 2007.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M. *Immunity: the immune response in infectious and inflammatory disease*. Sunderland, Mass: Sinauer Associates; 2007.

Janeway CA, Travers P, Walport M, et al. *Immunobiology: the immune system in health and disease*. ed 6 New York: Garland Science; 2004. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. *Kuby immunology*. ed 6 New York: WH Freeman; 2007.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. ed 7 Philadelphia: Saunders; 2005.

Sompayrac L. How the immune system works. ed 2 Malden, Mass: Blackwell Scientific; 2003.

Trends Immunol: Issues contain understandable reviews on current topics in immunology.

CAPÍTULO 10

Respostas Imunes aos Agentes Infecciosos



Animações para este capítulo estão disponíveis no www.evolution.com.br

Os capítulos anteriores desta seção apresentaram os diferentes atores imunológicos e suas características. Este capítulo descreve os diferentes papéis que eles desempenham na proteção do hospedeiro contra a infecção, suas interações e as consequências imunopatogênicas que podem surgir como resultado da resposta imune (Quadro 10-1). A maioria das infecções é controlada pelas respostas inatas antes de as respostas imunes adaptativas serem iniciadas, mas as respostas adaptativas são necessárias para resolver as infecções mais complicadas. As respostas inata e adaptativa também são importantes para limitar a flora normal ao seu local próprio no corpo e conter as espécies virulentas. A importância de cada um dos componentes da resposta do hospedeiro varia de acordo com os diferentes tipos de agentes infecciosos (Tabela 10-1), e sua importância se torna óbvia quando esse hospedeiro é geneticamente deficiente ou imunossuprimido por quimioterapia, doença ou infecção (p. ex., síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]).



Quadro 10-1 Resumo das Respostas Imunes

O drama da resposta do hospedeiro à infecção se desenrola em vários atos após um estímulo infeccioso, com certas diferenças na dependência do "vilão microbiano". Os atores são: as células da resposta inata, incluindo as células da linhagem monócito-macrófago, as células dendríticas imaturas (iDC) e as células dendríticas (DC); as células natural killer (NK); os linfócitos T e B da resposta adaptativa antígeno-específica; e outras células. Essas células são distinguidas pelas suas estruturas externas, suas "roupagens", as quais também definem seus papéis na reposta imune. O Ato 1 começa no local da infecção e envolve a resposta inata. A ativação do complemento libera os fragmentos "a": C3a, C4a e C5a, que atraem os atores para o local da infecção. Os neutrófilos, e mais tarde, os macrófagos ativados agem diretamente nas bactérias e na infecção. Interferons do tipo I limitam a replicação viral, ativam as células NK e também facilitam o desenvolvimento da subsequente resposta de célula T. As células NK fornecem a resposta inicial à infecção e destroem células infectadas por vírus e células tumorais. As células NK retornam no Ato 2 para matar as células cercadas por anticorpos (citotoxicidade celular dependente de anticorpo [ADCC]). As DC fazem a ponte entre as respostas inatas e as respostas protetoras antígeno-específicas, primeiramente por produzirem citocinas para aumentar a ação e, depois, por levar suas cargas fagocitadas e pinocitadas para os linfonodos, como a única célula apresentadora de antígeno (APC) capaz de iniciar uma resposta imune. O Ato 2 inicia-se no linfonodo, onde as DC maduras apresentam o antígeno aos linfócitos T. O enredo dessa história pode prosseguir com o reforço das respostas inflamatórias locais (Th17, Th1) ou com o início das respostas humorais sistêmicas (Th2), na dependência do diálogo entre as citocinas da DC e da célula T. As células T desempenham um papel central na ativação e no controle (auxílio) das respostas imune e inflamatória mediante a liberação de citocinas. No Ato 3, as células B e T aumentam em número e, respectivamente, diferenciam-se terminalmente em plasmócitos para produzir respostas imunes mediadas por anticorpos e células efetoras, para produzir respostas celulares antígeno-específicas. Na qualidade de APC, macrófagos, DC e células B refinam e fortalecem a direção da resposta. Certos membros do elenco das células T e B mantêm um perfil discreto e se tornam células de memória, aptas a responder ao drama mais rápida e eficientemente no futuro. Atores celulares específicos, interações ligante-receptor entre os atores, e o diálogo entre as citocinas determinam o drama que se desenrola durante a resposta imune.

Importância das Defesas Antimicrobianas aos Agentes Infecciosos

Defesa do Hospedeiro	Bactéria	Bactéria Intracelular	Vírus	Fungos	Parasitas
Complemento	+++	_	-	_	+
Interferon-α/β	_	_	++++	_	_
Neutrófilos	++++	_	+	+++	++
Macrófagos	+++	+++*	++	++	+
Células natural killer	-	_	+++	_	_
CD4 Th1	+	++	+++	++	+
Th17	++	++	++	++++	+
CD8 citotóxicos	-	++	++++	_	_
Anticorpo	+++	+	++	++	++ (IgE) [†]

^{*} Macrófagos M1 ativados.

Os seres humanos possuem três linhas básicas de proteção contra a infecção inapropriada por micróbios:

- 1. Barreiras naturais, como a pele, o muco, o epitélio ciliado, o ácido gástrico e a bile, que restringem a entrada do agente.
- 2. Defesas imunes inatas não específicas ao antígeno, como febre, peptídeos antimicrobianos, interferon, complemento, neutrófilos, macrófagos, células dendríticas (DC, do inglês, dendritic cells) e células natural killer (NK), que proporcionam respostas locais rápidas, que agem no local da infecção a fim de restringir o crescimento e a disseminação do agente infeccioso.
- 3. Respostas imunes adaptativas específicas ao antígeno, como os anticorpos e as células T, que reforçam a proteção inata e especificamente se dirigem, atacam e eliminam os invasores que conseguiram transpor as duas primeiras linhas de defesa.

Os sintomas e a doença ocorrem quando as funções de barreira e as respostas inatas são insuficientes para manter a flora normal confinada ao seu nicho, ou controlar outras infecções. As infecções podem crescer, disseminar-se e causar doença durante o período de tempo necessário para se iniciar uma nova resposta imune antígeno-específica. A memória imunológica provocada por infecção prévia ou por vacinação pode ser ativada com rapidez suficiente para controlar a maioria das infecções, antes de ocorrerem os sintomas.

Respostas Antibacterianas

A Figura 10-1 ilustra a progressão das respostas protetoras a um desafio bacteriano. A proteção é iniciada por ativação das respostas inata e inflamatória local e evolui para as respostas sistêmicas de fase aguda e antígeno-específicas. Uma nova resposta progride a partir de fatores antibacterianos solúveis (peptídeos e complemento) para respostas celulares e, depois, para respostas de anticorpos solúveis. As respostas antibacterianas mais importantes do hospedeiro são a morte por fagocitose, realizada pelos neutrófilos e macrófagos, e o anticorpo antitoxina. O complemento e os anticorpos facilitam a captação dos micróbios pelos fagócitos e as respostas das células T CD4 Th1 e Th17 aumentam e regulam suas funções. O Quadro 10-2 apresenta um resumo das respostas antibacterianas.

[†] Imunoglobulina E e mastócitos são especialmente importantes para infecções por helmintos (vermes).

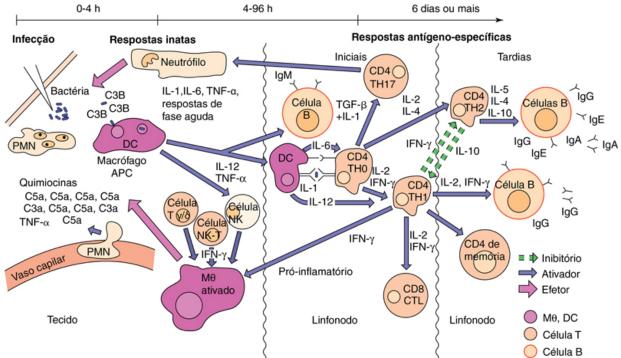


FIGURA 10-1 Respostas antibacterianas. Primeiro, as respostas inatas não específicas ao antígeno atraem e promovem as respostas de neutrófilo polimorfonuclear (*PMN*) e de macrófago (*Mθ*). As células dendríticas (*DC*) e o antígeno alcançam o linfonodo para ativar as respostas imunes iniciais (*Th17*, *Th1*, *IgM* e *IgG*). Mais tarde, respostas de anticorpos Th2 sistêmicas e células de memória são desenvolvidas. **O curso temporal dos eventos está indicado no topo da figura**. *APC*, célula apresentadora de antígeno; *CTL*, linfócito T citotóxico; *IFN*-γ, interferon-γ; *IL*, interleucina; *TGF*-β, fator de transformação do crescimento-β; *Th*, T auxiliar (célula); *TNF*-α, fator de necrose tumoral-α.



Quadro 10-2 Resumo das Respostas Antibacterianas

Peptídeos e Proteínas Antimicrobianos

Defensinas e outros peptídeos rompem as membranas

Transferrina, lactoferrina, e outras proteínas sequestram ferro e outros íons essenciais

Complemento

Produção de proteínas quimiotáticas e anafilotóxicas (C3a, C5a)

Opsonização de bactérias (C3b)

Promoção da morte de bactérias Gram-negativas

Ativação de células B (C3d)

Neutrófilos

Importante célula fagocitária antibacteriana

Eliminação das bactérias por meio de mecanismos dependentes e independentes de oxigênio

Macrófagos Ativados (M1)

Importante célula fagocitária antibacteriana

Eliminação por meio de mecanismos dependentes e independentes de oxigênio

Produção de TNF-α, IL-1, IL-6, IL-23 e IL-12

Ativação das respostas de fase aguda e inflamatória

Apresentação de antígenos para a célula T CD4

Células Dendríticas

Produção de citocinas de fase aguda (TNF- α , IL-6, IL-1); além de: IL-23, IL-12; IFN- α

Apresentação de antígenos às células T CD4 e CD8

Iniciação das respostas imunes nas células T naïve

Células T

Resposta de célula T γ/δ aos metabólitos bacterianos

Resposta de célula T natural killer (NKT) à apresentação de glicolipídeos micobacterianos pelo CD1

Resposta de CD4 Th17 ativa os neutrófilos

Respostas de CD4 Th1 são importantes nas infecções bacterianas, especialmente nas intracelulares

Resposta de CD4 Th2 é importante para as proteções por anticorpos

Anticorpo

Ligação às estruturas de superfície das bactérias (fímbria, ácido lipoteicoico, cápsula)

Bloqueio da fixação

Opsonização da bactéria para a fagocitose

Promoção da ação do complemento

Promoção da remoção da bactéria

Neutralização de toxinas e enzimas tóxicas

IFN- α , Interferon- α ; IL, interleucina; TNF- α , fator de necrose tumoral- α .

Início da Resposta

Uma vez ultrapassadas as barreiras, as superfícies celulares das bactérias ativam as vias do complemento, alternativa ou da lectina, que estão presentes no fluido intersticial e no soro. O **sistema complemento** (Cap. 8) é uma defesa antibacteriana muito precoce e importante. A **via alternativa do complemento (properdina)** é ativada pela clivagem e ligação do C3 às superfícies bacterianas. A ligação da **proteína de ligação à manose** aos polissacarídeos bacterianos ativa a **via da lectina do complemento**. Mais tarde, quando a imunoglobulina (Ig)M ou IgG está presente, a **via clássica do complemento** é ativada. As três vias convergem para clivar o C3 em C3a, C3b e C3d e gerar a C5 convertase para produzir C5a. O complexo de ataque à membrana (MAC, do inglês, *membrane attack complex*) pode matar diretamente bactérias Gram-negativas e, em uma extensão muito menor, bactérias Gram-positivas (a espessa membrana de peptideoglicano das bactérias Gram-positivas as defende desses componentes). *Neisseria* são especialmente suscetíveis à lise pelo complemento devido à truncada estrutura de lipo-oligossacarídeo na sua membrana externa. O complemento facilita a eliminação de todas as bactérias pela produção de:

- 1. Fatores quimiotáticos (C3a e C5a) para atrair os neutrófilos e macrófagos para o local da infecção
- 2. **Anafilatoxinas (C5a, C3a e, em menor grau, C4a)** para estimular a liberação de histamina pelos mastócitos e, com isso, aumentar a permeabilidade vascular, permitindo o acesso ao local da infecção
- 3. Opsoninas (C3b), que se ligam às bactérias e promovem a sua fagocitose
- 4. Um ativador de célula B (C3d), que aumenta a produção de anticorpos.

As moléculas das paredes celulares bacterianas (ácido teicóico, ácido lipoteicóico e fragmentos de peptideoglicanos de bactérias Gram-positivas e o lipídeo A do lipopolissacarídeo [LPS] de bactérias Gram-negativas) ligam-se e ativam os receptores dos padrões moleculares associados a patógenos (PAMP) (veja Tabela 8-2 e Fig. 8-4). O lipídeo A (endotoxina) liga-se ao TLR4 e a outros receptores de PAMP e é um ativador potente de DC, macrófagos, células B e outras células selecionadas (p. ex., células epiteliais e endoteliais). A ligação desses PAMP a receptores nas células epiteliais, macrófagos, células de Langerhans e DC conduz à ativação do inflamassoma e promove a produção de citocinas (incluindo as citocinas de fase aguda, interleucina [IL]-1, IL-6 e fator de necrose tumoral [TNF]-α), respostas protetoras, e a maturação das DC. O inflamassoma promove a clivagem da IL-1β e IL-18 para intensificar a inflamação local (veja Fig. 8-5). As células NK, NKT e T γ/δ residentes no tecido também respondem, produzem citocinas e reforçam as respostas celulares.

IL-1 e TNF- α aumentam a resposta inflamatória estimulando localmente mudanças no tecido, promovendo a diapedese de neutrófilos e macrófagos para o local da inflamação, e ativando essas células e as respostas sistêmicas. IL-1 e TNF- α são pirogêneos endógenos, que induzem a febre e também a **resposta de fase aguda**. A resposta de fase aguda pode também ser desencadeada por inflamação, dano tecidual, prostaglandina E_2 e interferons gerados durante a infecção. A resposta de fase aguda promove mudanças que dão suporte às defesas do hospedeiro e incluem febre, anorexia, sonolência, mudanças metabólicas e produção de proteínas. As proteínas de fase aguda, que são produzidas e liberadas para o soro, incluem proteína C-reativa, componentes do complemento, proteínas do sistema de coagulação, proteínas de ligação ao LPS, proteínas de transporte, inibidores de protease e proteínas de aderência. **A proteína C-reativa** se complexa com os polissacarídeos de diversas bactérias e fungos e ativa a via do complemento, facilitando a remoção desses organismos do corpo pela amplificação da fagocitose. As proteínas de fase aguda intensificam as defesas inatas contra a infecção.

Os peptídeos antimicrobianos, incluindo as defensinas, são liberados por células epiteliais ativadas, neutrófilos e outras células, para proteger a pele e as mucosas. Sua liberação é intensificada pelas respostas Th17. Os peptídeos antimicrobianos são muito importantes para a regulação das espécies bacterianas no trato gastrointestinal. Além disso, peptídeos quelantes são liberados como parte da resposta inflamatória para sequestrar íons metálicos essenciais, tais como ferro e zinco, para limitar o crescimento microbiano.

DC imaturas (iDC), macrófagos e outras células da linhagem dos macrófagos produzirão IL-23 e IL-12, além das citocinas de fase aguda. A IL-12 ativa as células NK no local da infecção, que podem produzir interferon-γ (IFN-γ) para ativar ainda mais macrófagos e DC. IL-12 e IL-23 ativam as respostas imunes Th1 e Th17, respectivamente, para amplificar as funções dos macrófagos e dos neutrófilos. As células epiteliais também respondem aos PAMP e liberam citocinas para estimular a proteção natural.

Essas ações iniciam a inflamação aguda local. A expansão dos capilares e o aumento do fluxo sanguíneo trazem mais agentes antimicrobianos ao local da inflamação. O aumento na permeabilidade e as alterações das moléculas de superfície da estrutura da microvasculatura atraem e facilitam a entrada de leucócitos e fornecem acesso para fluidos e proteínas plasmáticas ao local da infecção. Cininas e fatores de coagulação induzidos pelo dano tecidual (p. ex., fator XII [fator de Hageman], bradicinina e fibrinopeptídeos) também estão envolvidos na inflamação. Esses fatores aumentam a permeabilidade vascular e são quimiotáticos para os leucócitos. Produtos do metabolismo do ácido araquidônico também afetam a inflamação. Ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e 5-lipoxigenase convertem o ácido araquidônico em**prostaglandinas e leucotrienos**, respectivamente, que podem mediar vários aspectos da inflamação aguda. O curso da inflamação pode ser seguido pelo aumento rápido no soro dos níveis de proteínas de fase aguda, especialmente a proteína C-reativa (que pode aumentar 1.000 vezes dentro de 24 a 48 horas) e da amiloide sérica A. Embora esses processos sejam benéficos, a inflamação também causa **dor, vermelhidão, aquecimento, inchaço e promove dano tecidual**. O dano inflamatório é causado, até certo ponto, pelo complemento e por macrófagos, mas principalmente por neutrófilos.

Respostas Fagocitárias

C3a, C5a, produtos bacterianos (p. ex., formil-metionil- leucil-fenilalanina [f-met-leu-fen]) e as quimiocinas produzidas pelas células epiteliais, células de Langerhans e outras células na pele e no epitélio mucoso são poderosos quimioatrativos para neutrófilos, macrófagos e, mais adiante na resposta, para os linfócitos. As quimiocinas e o **fator de necrose tumoral-α** (TNF-α) induzem as células endoteliais, que revestem os capilares (próximos da inflamação), bem como os leucócitos que circulam no local, a expressarem moléculas de adesão complementares ("velcro" molecular) para promover a diapedese (Fig. 8-6; Animação 10-1). Os neutrófilos polimorfonucleares (PMN) são as primeiras células a chegarem ao local em resposta à infecção; são seguidos, mais tarde, pelos monócitos e macrófagos. O recrutamento de neutrófilos imaturos, os bastonetes, liberados da medula óssea durante a infecção, é chamado de "desvio à esquerda" em uma contagem completa das células sanguíneas. Os neutrófilos são recrutados e ativados pela resposta Th17; os macrófagos e as DC são ativados pelo IFN-γ produzido pelas células NK e NKT e pela resposta Th1.

As bactérias se ligam aos neutrófilos e aos macrófagos pelos receptores de carboidratos bacterianos (lectinas [proteínas específicas de ligação ao açúcar]), receptores de fibronectina (especialmente para o *Staphylococcus aureus*) e **receptores para opsoninas**, incluindo o complemento (C3b), a proteína C-reativa, a proteína de ligação à manose e a porção Fc do anticorpo. Os microrganismos são internalizados em um **vacúolo fagocitário** que se funde com os **lisossomos primários** (macrófagos) ou com os **grânulos** (PMN), permitindo a inativação e a digestão dos conteúdos dos vacúolos (Fig. 8-7 e Quadro 8-4).

O neutrófilo destrói os micróbios fagocitados por morte dependente de oxigênio, com o peróxido de hidrogênio, íon superóxido e íons hipocloroso, e com morte independente de oxigênio, após a fusão do fagossomo com grânulos azurófilos contendo proteínas catiônicas (p. ex., catepsina G) e grânulos específicos contendo lisozima e lactoferrina. Essas proteínas matam bactérias Gram-negativas por perturbar a integridade da sua membrana celular, mas são muito menos eficazes contra bactérias Gram-positivas, que são mortas principalmente pelos mecanismos dependentes do oxigênio. O óxido nítrico produzido por neutrófilos e macrófagos ativados possui atividade antimicrobiana e é também um segundo importante mensageiro molecular, que aumenta a resposta inflamatória e outras respostas.

Os neutrófilos contribuem para a inflamação de diversas maneiras. Prostaglandinas e leucotrienos são liberados e aumentam a permeabilidade vascular, causando inchaço (edema) e estimulando os receptores da dor. Durante a fagocitose os grânulos podem extravasar seus conteúdos, provocando dano tecidual. Os neutrófilos têm vida curta e, após a morte, liberam uma rede pegajosa de DNA (armadilha extracelular de neutrófilos) e tornam-se pus.

Ao contrário dos neutrófilos, os macrófagos possuem vida longa, mas as células devem ser ativadas (provocadas) pelo IFN- γ a fim de matar os micróbios fagocitados. O fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), o TNF- α e a linfotoxina (TNF- β) mantêm a sua ação antimicrobiana (por mantê-los instigados). No início da infecção, o IFN- γ é produzido pelas células NK e NKT e, mais tarde, pelas células T CD4. Os **macrófagos esplênicos** são importantes para remover as bactérias do sangue, especialmente as encapsuladas. Os indivíduos asplênicos (congênita ou cirurgicamente) são altamente suscetíveis a pneumonia, meningite e outras manifestações de *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, bem como a outras bactérias e leveduras encapsuladas.

Resposta Antígeno-específica à Invasão Bacteriana

Na ingestão de bactérias, e após a estimulação dos TLR pelos componentes bacterianos, as células de Langerhans e as iDC se tornam maduras, cessam a fagocitose e se movem para os linfonodos para processar e entregar seu antígeno internalizado para a apresentação às células T (Fig. 10-2). As células dendríticas também inserem dendritos no lúmen intestinal para "avaliar" a flora normal. Os peptídeos antigênicos (que possuem mais de 11 aminoácidos) produzidos a partir das proteínas fagocitadas (via exógena) são ligados às moléculas de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e apresentados, por essas células apresentadoras de antígeno (APC, do inglês, *antigen-presenting cells*), às **células T CD4 Th0** *naïve*. As Th0 fornecem o primeiro estádio, uma expansão generalizada das células imunes necessárias para responder à infecção. As células T CD4 são ativadas por uma combinação de: (1) peptídeo antigênico na fenda da molécula do MHC classe II com o receptor de antígeno da célula T (TCR) e com CD4; (2) sinais coestimuladores fornecidos por um número suficiente de interações das moléculas B7 na DC com as moléculas CD28 nas células T; e (3) pela IL-6 e outras citocinas produzidas pela DC. As células Th0 produzem IL-2, IFN-γ e IL-4.

Simultaneamente, moléculas bacterianas com estruturas repetitivas (p. ex., polissacarídeo capsular) interagem com as células B, que expressam IgM e IgD de superfície específicas para o antígeno, e ativam a célula para proliferar e produzir IgM. O LPS e também o componente C3d do complemento ativam as células B e promovem as respostas específicas de anticorpo IgM. Os linfonodos intumescidos são uma indicação da proliferação de linfócitos em resposta à invasão antigênica.

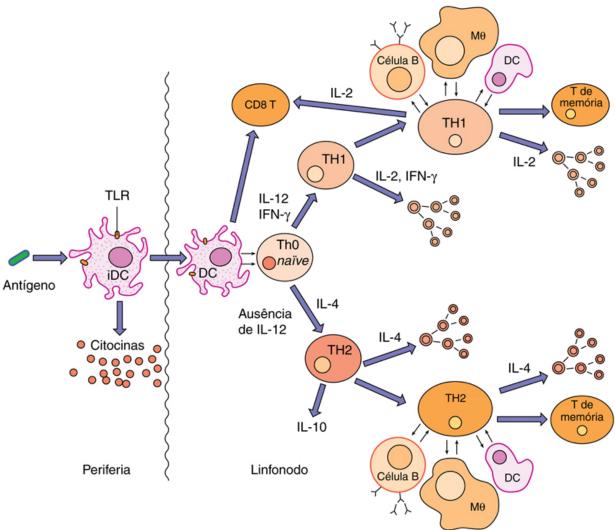


FIGURA 10-2 Iniciação e expansão das respostas imunes específicas. As células dendríticas imaturas (*iDC*) adquirem detritos microbianos no local da infecção; receptores *Toll-like* (*TLR*) e outros receptores de padrões moleculares associados a patógenos (p. ex., PAMPR, do inglês, pathogen-associated molecular patterns receptor) ligam-se aos seus ligantes e ativam as células dendríticas (*DC*) que produzem citocinas, amadurecem e movem-se para o linfonodo. As DC apresentam o antígeno às células T *naïve* para iniciar a resposta antígeno-específica e as citocinas dirigem a resposta. Durante uma resposta secundária ou de memória, células B, macrófagos e DC podem apresentar o antígeno para iniciar a resposta. *IL*, interleucina; *IFN-γ*, interferon-γ; *Mθ*, macrófago; *Th*, T auxiliar (célula).

Respostas iniciais são também produzidas por células T γ/δ , células NKT e células linfoides inatas (incluindo células NK). Células T γ/δ no tecido e no sangue percebem metabólitos aminofosforilados de algumas bactérias (*Escherichia coli*, micobactérias), mas não de outras (estreptococos e estafilococos). As DC podem apresentar glicolipídeos bacterianos para ativar as células NKT. Essas células T e as **células linfoides inatas** produzem IFN- γ que ativa macrófagos e DC para amplificar as reações inflamatórias celulares locais.

A conversão de células Th0 em células Th17 e Th1 inicia a expansão da resposta do hospedeiro. As citocinas de fase aguda IL-1 e TNF- α , em conjunto com o onipresente fator transformador do crescimento (TGF)- β , promovem o desenvolvimento das **células T CD4 Th17** (Animação 9-5). As citocinas de fase aguda emitem um pedido de socorro, apesar da influência atenuante do TGF- β , para que as células T CD4 Th17 liberem um rápido alarme, na forma de citocina inflamatória, para as células epiteliais e neutrófilos ativarem as respostas inflamatórias. As células Th17 de memória são ativadas pela IL-23. As células Th17 produzem IL-17 e TNF- α que ativam células epiteliais e neutrófilos e também promovem a produção de peptídeos antimicrobianos. As respostas Th17 são importantes para as respostas antibacterianas iniciais e para as respostas antimicobacterianas. Um balanço entre Th17 e Treg é também importante para regular as populações da flora intestinal.

DC produtoras de IL-12 promovem respostas Th1. As **células CD4 Th1** (1) promovem e intensificam as respostas inflamatórias (p. ex., ativação do macrófago pelo IFN-γ) e crescimento das células T e B (IL-2) para expandir a resposta imune; e (2) estimulam as células B a produzirem anticorpos fixadores de complemento (IgM e depois IgG, após a mudança

de classe) e a transformarem-se em plasmócitos e células de memória. Essas respostas são importantes para as fases iniciais de uma defesa antibacteriana. As respostas Th1 também são essenciais para combater as infecções bacterianas intracelulares e as micobactérias, que se escondem do anticorpo. O IFN-γ ativa o macrófago para matar o micróbio fagocitado. Diante da estimulação crônica por macrófagos que expressam antígenos microbianos (p. ex., micobacteriano ou histoplasmático), as células T CD4 Th1 irão produzir IFN-γ e TNF-α e provocar a transformação de outros macrófagos em células epitelioides e células gigantes, que podem envolver a infecção e produzir um granuloma. O cercamento das infecções intracelulares pelos granulomas surge porque o micróbio pode evadir-se das respostas antimicrobianas (p. ex., *Mycobacterium tuberculosis*), ou porque os macrófagos não são ativados não podendo matá-los (macrófagos alveolares normais), ou então por um defeito genético que impede a geração de substâncias reativas de oxigênio antimicrobianas, como na doença granulomatosa crônica. *As células T CD8 facilitam a eliminação das infecções intracelulares por intermédio da produção de citocinas, mas não são essenciais para a imunidade antibacteriana*.

As respostas da **célula T CD4 Th2** ocorrem na ausência da IL-12 nos linfonodos mais distantes. Essas respostas também são iniciadas pelas DC e são mantidas pela apresentação de antígeno pela célula B. As respostas Th2 podem ocorrer ao mesmo tempo que as respostas Th1, quando o antígeno é transportado da linfa para outros gânglios linfáticos diferentes daqueles para onde é feita a drenagem linfática. As DC atuam como inspetores de saneamento, que promovem uma resposta para eliminar proteínas em excesso e danificadas. Esse é o mesmo tipo de resposta que ocorre na injeção de um bolus de antígeno para uma vacina inativada. A ligação do antígeno ao anticorpo de superfície celular nas células B ativa essas células e também promove a captação, o processamento do antígeno e a apresentação dos peptídeos antigênicos junto às moléculas MHC de classe II, para a célula CD4 Th2. A célula Th2 produz IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 que aumentam a produção de IgG e, dependendo de outros fatores, a produção de IgE ou IgA. As células **CD4 TFH** (células T auxiliares foliculares, do inglês *follicular helper CD4 T cells*) são um condutor para as respostas Th1 ou Th2 para promover a produção de células de memória e a diferenciação terminal de células B para plasmócitos fabricantes de anticorpos.

As **células T reguladoras (Treg) CD4⁺ CD25⁺** previnem a ativação degenerada de células T *naïve*, limitando as respostas Th1 e Th2 e promovendo o desenvolvimento de algumas das células antígeno-específicas em células T de memória. Somente as DC podem abolir o bloqueio de Treg à ativação da célula T *naïve*.

Os anticorpos são a proteção principal contra as bactérias extracelulares e as toxinas, e promovem a remoção e previnem a disseminação das bactérias no sangue (bacteremia). Os anticorpos promovem a ativação do complemento, opsonizam as bactérias para a fagocitose, bloqueiam a adesão bacteriana e neutralizam (inativam) as exotoxinas (p. ex., tetanospasmina, toxina botulínica) e outras proteínas citotóxicas produzidas pelas bactérias (p. ex., enzimas degradantes). A imunização com vacinas que utilizam exotoxinas inativadas (toxoides) é o principal meio de proteção contra os efeitos potencialmente letais das exotoxinas.

Os anticorpos IgM são produzidos logo no início da resposta antibacteriana (Animação 10-1). A IgM ligada às bactérias ativa a cascata clássica do complemento promovendo, não apenas a eliminação direta das bactérias Gram-negativas, como também as respostas inflamatórias. A IgM é normalmente o único anticorpo produzido contra polissacarídeos capsulares e promove a opsonização das bactérias com complemento. Os macrófagos esplênicos dependem da IgM se ligar a polissacarídeos capsulares para ativar o complemento e opsonizar as bactérias encapsuladas, de forma que elas possam ser reconhecidas, fagocitadas e eliminadas. O seu grande tamanho e os limitados mecanismos de transporte para a IgM restringem a sua capacidade de se difundir para o tecido. A IgM produzida em resposta a vacinas de polissacarídeos (como por exemplo o *Streptococcus pneumonia*) pode impedir a bacteriemia, mas não a infecção do interstício do pulmão. Aproximadamente uma semana mais tarde, a célula T auxiliadora promove a diferenciação da célula B e a alteração da classe de imunoglobulina para produzir IgG. Os anticorpos IgG são os anticorpos séricos predominantes, especialmente na vigência de um novo estímulo. Os anticorpos IgG fixam o complemento e promovem a captação fagocitária das bactérias, por meio dos receptores Fc nos macrófagos. A IgA é o principal anticorpo secretor e é importante para a proteção das mucosas. Grandes quantidades de IgA secretoras são liberadas para regular a população da flora normal, impedir a adesão de bactérias e neutralizar toxinas na superfície das células epiteliais.

Uma resposta primária antígeno-específica à infecção bacteriana leva entre 5 a 7 dias. O movimento da DC para o linfonodo pode levar 1 a 3 dias, seguido por ativação, expansão e maturação da resposta imune. Na reincidência da infecção, os plasmócitos de longa vida ainda podem ser produtores de anticorpos. As células T de memória podem responder rapidamente à apresentação do antígeno pelas DC, pelos macrófagos ou pelas células B, e não apenas pelas DC; as células B de memória respondem rapidamente ao antígeno; a resposta secundária de anticorpo ocorre dentro de 2 a 3 dias.

Imunidade Cutânea, Intestinal e da Mucosa

A pele, o intestino e as mucosas são povoados com bactérias assim que se atravessa o canal de parto e logo em seguida. A resposta imune amadurece, e um equilíbrio desenvolve-se entre as células inflamatórias e reguladoras, em resposta a essa flora normal.

A flora intestinal está constantemente interagindo com e sendo regulada pelos sistemas inato e adaptativo do tecido linfoide associado ao intestino (Fig. 7-5). De modo similar, a resposta imune é moldada pelas suas interações com a flora intestinal, como as células reguladoras, que limitam o desenvolvimento de respostas autoimunes e de inflamação. As DC, células linfoides inatas, Treg, Th17, Th1 e outras células T e B na lâmina própria, nas placas de Peyer e nos folículos linfoides intestinais monitoram e controlam as bactérias dentro do intestino. Essas células, as células epiteliais e outras que

revestem o intestino produzem peptídeos antimicrobianos, e os plasmócitos secretam IgA no intestino para manter a mistura saudável de bactérias. Ao mesmo tempo, células reguladoras previnem o desenvolvimento de respostas imunes prejudiciais ou excessivas para os conteúdos do intestino. Alterações na flora microbiana e sua interação com as células inatas e adaptativas podem interromper o sistema e resultar em doenças inflamatórias intestinais. Por exemplo, a ausência ou a mutação no receptor de IL-23 ou receptor NOD2 para o peptideoglicano aumenta as chances para certos tipos da doença de Crohn.

Na pele, as células de Langerhans são DC sentinelas que respondem ao trauma e à infecção. As células T CD4 e CD8 de memória circulam constantemente na pele, a partir do sangue. No trato respiratório, os peptídeos antimicrobianos e a IgA secretora controlam as bactérias, o muco as retém, e os movimentos ciliares movem o muco e as bactérias para fora dos pulmões. As respostas inflamatórias são controladas pelos macrófagos alveolares (macrófagos M2) para prevenir danos aos tecidos e à flora normal. Tal como no trato gastrointestinal, as DC inspecionam o epitélio para micróbios normais e anormais.

Imunopatogênese Bacteriana

A ativação das respostas inflamatórias e de fase aguda pode dar início a um dano tecidual e sistêmico significativo. A ativação de macrófagos e DC no fígado, no baço e no sangue pelas endotoxinas pode promover a liberação de citocinas de fase aguda no sangue causando muitos dos sintomas da **sepse**, incluindo a falência hemodinâmica, o choque e a morte (consulte a seção "Tempestade de Citocinas" e o Cap. 14). Embora a IL-1, a IL-6 e o TNF-α promovam respostas protetoras a uma infecção local, essas mesmas respostas podem colocar a vida em risco quando ativadas por infecção sistêmica. O fluxo sanguíneo aumentado e o extravasamento de fluidos podem levar ao choque quando ocorrem em todo o corpo. Os anticorpos produzidos contra os antígenos bacterianos que compartilham determinantes antigênicos com as proteínas humanas podem iniciar a destruição autoimune do tecido (p. ex., anticorpos produzidos na febre reumática pósestreptocócica). A ativação não específica das células T CD4 pelos **superantígenos** (p. ex., a toxina da síndrome do choque tóxico pelo *S. aureus*) promove a produção de grandes quantidades de citocinas e, consequentemente, a morte de grandes quantidades de células T. A liberação súbita e maciça de citocinas ("tempestade de citocinas") pode provocar choque e dano tecidual grave (p. ex., síndrome do choque tóxico) (consulte a seção "Tempestade de Citocinas" e o Cap. 14).

Evasão Bacteriana das Respostas Protetoras

Os mecanismos usados pelas bactérias para fugir das respostas protetoras do hospedeiro são discutidos no Capítulo 14, como fatores de virulência. Esses mecanismos incluem: (1) a inibição da fagocitose e da morte intracelular no fagócito; (2) a inativação da função do complemento; (3) a ligação da porção Fc da IgG e a clivagem da IgA; (4) o crescimento intracelular (esquivando-se do anticorpo); e (5) mudanças no aspecto antigênico bacteriano. Alguns microrganismos, incluindo mas não se limitando às micobactérias (também espécies de *Listeria* e *Brucella*), sobrevivem e se multiplicam dentro dos macrófagos, usando-os como um reservatório protetor ou como um sistema de transporte para ajudar a disseminar os microrganismos pelo corpo. Entretanto, os macrófagos ativados por citocina muitas vezes podem matar os patógenos intracelulares.

Respostas Antivirais

Defesas do Hospedeiro contra a Infecção Viral

A resposta imune é o melhor e, na maioria dos casos, o único meio de controlar uma infecção viral (Fig. 10-3 e Quadro 10-3). Infelizmente, também é a fonte da patogênese para muitas doenças virais. As respostas imunes humoral e celular são importantes para a imunidade antiviral. O objetivo final da resposta imune em uma infecção viral é eliminar tanto o vírus quanto as células do hospedeiro, que abrigam ou replicam esse vírus. O fracasso em resolver a infecção pode levar à infecção persistente ou crônica, ou à morte.

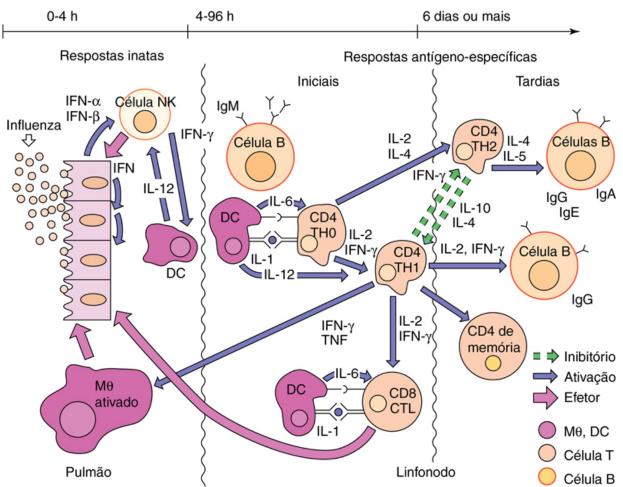


FIGURA 10-3 Respostas antivirais. A resposta a um vírus (p. ex., vírus influenza) inicia-se com produção e ação de interferon e com a ação das células *NK*. A ativação da resposta antígeno-específica se assemelha à da resposta antibacteriana, exceto pelo fato dos linfócitos T citotóxicos CD8 (*CTL*) serem importantes para as respostas antivirais. **O curso temporal dos eventos está indicado no topo da figura**. *IFN*, interferon; *IL*, interleucina; *Mθ*, macrófago; *Th*, T auxiliar (célula); *TNF*, fator de necrose tumoral.



Quadro 10-3 Resumo das Respostas Antivirais

Interferon

O interferon é induzido pelo RNA de fita dupla, pela inibição da síntese proteica celular ou pelo vírus envelopado

O interferon inicia o estado antiviral nas células circundantes

O estado antiviral bloqueia a replicação do vírus

O interferon ativa as células NK e as respostas antivirais sistêmicas

Células NK

As células NK são ativadas pelo IFN- α e pela interleucina-12, que ativam os macrófagos via IFN- γ As células NK buscam e matam as células infectadas por vírus (especialmente os vírus envelopados)

Macrófagos e DC

Os macrófagos filtram as partículas virais do sangue

Os macrófagos inativam as partículas virais opsonizadas

As DC imaturas e plasmacitoides produzem IFN- α e outras citocinas

As DC iniciam e determinam a natureza da resposta das células T CD4 e CD8

As DC e os macrófagos apresentam antígeno para as células T CD4

Células T

As células T são essenciais para controlar as infecções por vírus envelopados e não citolíticos

As células T reconhecem os peptídeos virais apresentados pelas moléculas de MHC nas superfícies das células Os peptídeos virais antigênicos (epítopos lineares) podem vir de qualquer proteína viral (p. ex., glicoproteínas

Os peptídeos virais antigênicos (epítopos lineares) podem vir de qualquer proteína viral (p. ex., glicoproteínas, nucleoproteínas)

As células T CD8 citotóxicas respondem ao complexo: peptídeo viral-proteína MHC de classe I na superfície da célula infectada

As respostas de CD4 Th2 podem ser prejudiciais se limitarem prematuramente as respostas Th1 inflamatórias e citolíticas

Anticorpo

O anticorpo neutraliza o vírus extracelular:

Ele bloqueia as proteínas de fixação do vírus (p. ex., glicoproteínas, proteínas do capsídeo)

Ele desestabiliza a estrutura viral

O anticorpo opsoniza o vírus para a fagocitose

O anticorpo promove a morte da célula-alvo pela cascata do complemento e pela citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC)

O anticorpo resolve as infecções virais líticas

O anticorpo bloqueia a disseminação virêmica para o tecido-alvo

A IgM é um indicador de infecção recente ou vigente

A IgG é um anticorpo antiviral mais eficaz do que a IgM

A IgA secretora é importante para proteger as superfícies mucosas

A resolução requer a eliminação do vírus livre (anticorpo) e da célula produtora do vírus (lise mediada pela célula imune ou viral)

DC, célula dendrítica; IFN, interferon; Ig, imunoglobulina; MHC, complexo principal de histocompatibilidade; NK, natural killer.

Os interferons, as células NK, as respostas Th1 CD4 e as células T CD8 citotóxicas são mais importantes para as infecções virais do que para as infecções bacterianas. O complemento tem um papel limitado na defesa antiviral.

O curso da resposta imune e a natureza imunopatogênica da infecção bacteriana e viral são diferentes. Para as bactérias, o complemento e o recrutamento de neutrófilos e macrófagos são a resposta inicial e, rapidamente, conduzem à inflamação associada à doença. O anticorpo pode controlar as bactérias extracelulares e as suas toxinas. No caso dos vírus, interferons de tipo I e outras citocinas iniciam a resposta, os sintomas prodrômicos são ativados pelo interferon e citocinas, mas a proteção, as respostas inflamatórias e a doença, muitas vezes, esperam até que as células T se tornem ativadas. Como resultado, o curso de tempo e a natureza da doença bacteriana e viral são muito diferentes.

Defesas Inatas

A temperatura corporal, a febre, os interferons, outras citocinas, o sistema fagocitário mononuclear e as células NK fornecem uma resposta local rápida à infecção viral e também ativam as defesas imunes específicas. Frequentemente, as defesas não específicas são suficientes para controlar uma infecção viral, prevenindo, assim, a ocorrência de sintomas.

A temperatura corporal e a febre podem limitar a replicação de alguns vírus ou desestabilizá-los. Muitos vírus são menos estáveis (p. ex., vírus do herpes simples) ou não podem se replicar (rinovírus) em temperaturas de 37°C ou superiores. Na vacina da gripe com vírus vivo, ele é atenuado porque não pode se replicar em temperatura superior a 25°C.

A infecção viral pode induzir a liberação de citocinas (p. ex., TNF, IL-1) e de interferon pelas células infectadas, pelas iDC e pelos macrófagos. O RNA viral (especialmente o **RNA de fita dupla**), o DNA e algumas glicoproteínas virais são ativadores poderosos dos TLR e de outros receptores-padrão de patógenos, para promover essas respostas de interferon e de citocina. Interferons e outras citocinas disparam respostas iniciais locais e sistêmicas. A indução da febre e a estimulação do sistema imune são dois desses efeitos sistêmicos.

As células do **sistema fagocitário mononuclear e dendrítico** fagocitam os restos celulares e virais das células infectadas por vírus. Os macrófagos no fígado (células de Kupffer) e no baço rapidamente filtram muitos vírus do sangue. O anticorpo e o complemento ligados a um vírus facilitam a sua captação e remoção pelos macrófagos (opsonização). As DC e os macrófagos também apresentam o antígeno às células T e liberam IL-1, IL-12 e IFN- α para expandir a resposta inata e iniciar a resposta imune antígeno-específica. As DC plasmocitoides no sangue produzem grandes quantidades de IFN- α e outras citocinas em resposta à viremia.

As **células NK** são ativadas por IFN- α , IFN- β e pela IL-12 para matar as células infectadas por vírus. A infecção viral pode reduzir a expressão das moléculas do MHC a fim de remover os sinais inibitórios ou pode alterar os carboidratos nas proteínas da superfície celular para fornecer sinais citolíticos para a célula NK.

Interferon

O interferon foi descrito pela primeira vez por Isaacs e Lindemann como um fator muito potente que "interfere" na replicação de muitos vírus diferentes. O interferon é a primeira defesa ativa do corpo contra uma infecção viral, um "sistema de alerta inicial". Além de ativar uma defesa antiviral da célula-alvo para bloquear a replicação viral, os interferons ativam a resposta imune e aumentam o reconhecimento, pela célula T, da célula infectada. O interferon é uma defesa muito importante contra a infecção, mas também é a causa dos sintomas sistêmicos associados a muitas infecções virais como mal-estar, mialgia, calafrios e febre (sintomas não específicos similares aos da gripe), especialmente durante a viremia. O interferon do tipo I é também um fator envolvido na causa do lúpus eritematoso sistêmico.

Os interferons compreendem uma família de proteínas que podem ser subdivididas de acordo com várias propriedades, incluindo o tamanho, a estabilidade, a célula de origem e o modo de ação (Tabela 10-2). O IFN- α e o IFN- β são interferons do tipo I que compartilham muitas propriedades, incluindo a homologia estrutural e o modo de ação. As células B, as células epiteliais, os monócitos, os macrófagos e as iDC produzem IFN- α . As DC plasmocitoides no sangue produzem grandes quantidades de IFN- α em resposta à viremia. Os fibroblastos e outras células produzem IFN- β em resposta à infecção viral e a outros estímulos. O IFN- λ (interferon lambda) é um interferon do tipo III com atividade similar à do IFN- α e é importante para a resposta anti-influenza. O IFN- γ é um interferon do tipo II, uma citocina produzida por células T ativadas e pelas células NK, que ocorre em um estádio mais avançado da infecção. Apesar de o IFN- γ inibir a replicação viral, a sua estrutura e o seu modo de ação diferem dos outros tipos de interferons. O IFN- γ também é conhecido como fator de ativação do macrófago, sendo um componente determinante da resposta Th1.



Tabela 10-2

Propriedades Básicas dos Interferons Humanos (IFN)

Propriedade IFN-α		IFN-β	IFN-γ	
Designações prévias	Interferon de leucócito tipo I	Interferon de fibroblasto tipo I	Interferon imune tipo II	
Genes	> 20	1	1	
Massa molecular (Da)*	16.000-23.000	23.000	20.000-25.000	
Estabilidade ácida	Estável [†]	Estável	Lábil	
Ativador primário	Vírus	Vírus	Resposta imune	
Principal fonte	Epitélio, leucócitos	Fibroblasto	Célula T ou célula NK	
Homologia com o IFN-α humano	100%	30-50%	< 10%	

Dados de White DO: Antiviral chemotherapy, interferons and vaccines. Basel, Switzerland, 1984, Karger; and Samuel CE: Antiviral actions of interferon. Interferon-regulated cellular proteins and their surprisingly selective antiviral activities, *Virology* 183:1-11, 1991.

O melhor indutor da produção de IFN-α e IFN-β é o RNA de fita dupla (dsRNA), produzido como intermediário replicativo de vírus RNA ou a partir da interação sense/antisense de RNA mensageiros (RNAm) para alguns vírus DNA (Quadro 10-4).Uma molécula de dsRNA por célula é suficiente para induzir a produção de interferon. A interação de alguns vírus envelopados (p. ex., vírus herpes simples e vírus da imunodeficiência humana [HIV]) com as DC plasmacitoides pode promover a produção de IFN-α. Alternativamente, a inibição da síntese proteica em uma célula infectada por vírus pode diminuir a produção de uma proteína repressora do gene do interferon, permitindo a produção de interferon. Os indutores não virais de interferon incluem:

1. Microrganismos intracelulares (p. ex., micobactérias, fungos e protozoários)



Quadro 10-4 Interferons do Tipo I

Indução

Ácido ribonucleico de fita dupla (durante a replicação viral)

Inibição viral da síntese proteica celular

Interação de vírus envelopado com a célula dendrítica plasmocitoide

Mecanismo de Ação

A célula inicialmente infectada, ou a célula dendrítica plasmocitoide, libera interferon

O interferon se liga a um receptor de superfície celular específico em outra célula

O interferon induz o "estado antiviral":

Síntese da proteína quinase R (PKR), da 2',5'-oligoadenilato sintetase e da ribonuclease L

A infecção viral da célula ativa essas enzimas

A síntese proteica é inibida para bloquear a replicação viral

Degradação do RNAm (2',5'-oligoadenilato sintetase e RNAase L)

Inibição da montagem do ribossomo (PKR)

Ativação das respostas antivirais inata e adaptativa

Indução de sintomas semelhantes aos da gripe

2. Ativadores de determinados TLR ou mitógenos (p. ex., endotoxinas, fito-hemaglutinina)

^{*} Massa molecular da forma monomérica.

[†] A maioria dos subtipos, mas não todos.

- 3. Polinucleotídeos de fita dupla (p. ex., poli I:C, poli dA:dT)
- 4. Polímeros polianiônicos sintéticos (p. ex., polissulfatos, polifosfatos, pirano)
- 5. Antibióticos (p. ex., canamicina, ciclo-heximida)
- 6. Compostos sintéticos de baixo peso molecular (p. ex., tilorona, corantes de acridina)

O IFN- α , o IFN- β e o IFN- λ podem ser induzidos e liberados algumas horas após o início da infecção (Fig. 10-4). O interferon se liga a receptores específicos nas células da vizinhança e induz a produção de proteínas antivirais — **o estado antiviral.** Contudo, essas proteínas antivirais não são ativadas até que se liguem ao dsRNA. Os principais efeitos antivirais do interferon são produzidos por duas enzimas: a **2**′,**5**′-**oligoadenilato sintetase** (uma polimerase incomum) e a **proteína quinase R (PKR)** (Fig. 10-5); e, para o vírus influenza, a **proteína mx** é também importante. A infecção viral da célula e a produção do dsRNA ativam essas enzimas e desencadeiam uma cascata de eventos bioquímicos: (1) a PKR leva à inibição da síntese proteica, pela fosforilação de um importante fator de iniciação ribossomal (o fator de iniciação do alongamento 2- α [eIF-2 α]); e (2) a ribonuclease L, ativada pela 2′,5′-oligoadenosina, leva à degradação do RNAm (preferencialmente, o RNAm viral). A PKR e a ribonuclease L ligam-se ao dsRNA ou à 2′,5′-oligoadenosina, respectivamente, como contas em um cordão, e, em seguida, ligam-se uns aos outros para formar multímeros, tornando-se ativados. Esse processo coloca essencialmente a fábrica de síntese proteica celular "em greve" e impede a replicação viral. Deve ser enfatizado que o interferon não bloqueia diretamente a replicação viral. O estado antiviral dura de 2 a 3 dias, o que deve ser suficiente para que a célula degrade e elimine o vírus sem ser morta.

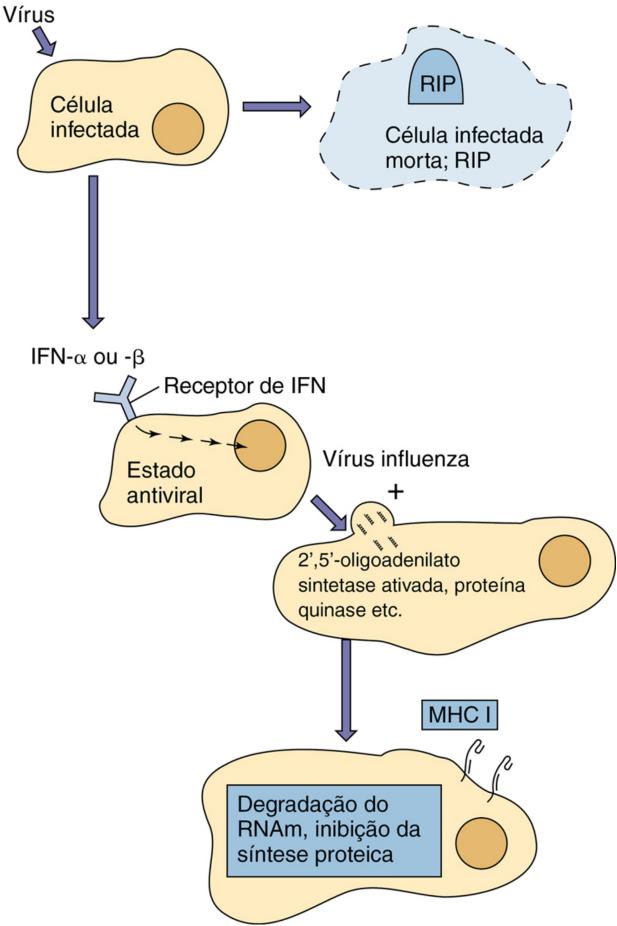


FIGURA 10-4 Indução do estado antiviral pelo interferon (*IFN*)-α ou pelo IFN-β. O interferon é produzido em resposta à infecção viral, mas não protege a célula inicialmente infectada. O interferon liga-se a um receptor de superfície celular em outras células e induz a produção de enzimas antivirais (estado antiviral). A infecção e a produção do RNA de fita dupla estimulam a atividade antiviral. *MHC I*, molécula de classe I do complexo principal de histocompatibilidade.

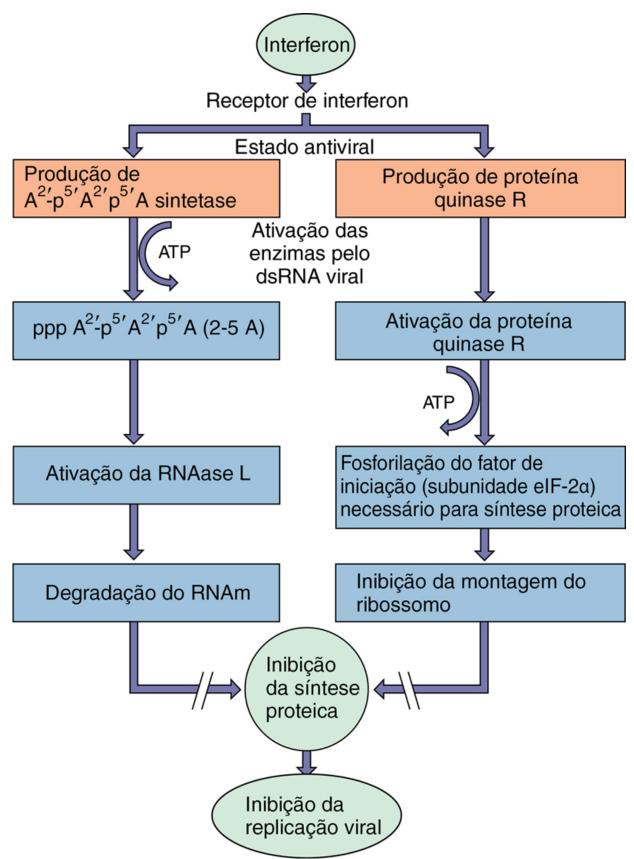


FIGURA 10-5 As duas principais vias de inibição da síntese proteica viral pelo interferon. Um mecanismo envolve a indução de uma polimerase incomum (2',5'-oligoadenilato sintetase [2-5A]) que é ativada pelo RNA de fita dupla (dsRNA). A enzima ativada sintetiza uma cadeia de adenina incomum, com uma ligação 2',5'-fosfodiester. O oligômero ativa a RNAase L, que degrada o RNA mensageiro (RNAm). O outro mecanismo envolve a indução da proteína quinase R (PKR), a qual impede a montagem do ribossomo, pela fosforilação do fator de iniciação do alongamento (eIF-2α), impedindo a iniciação da síntese proteica a partir dos RNAm "encapados" (do inglês, *capped mRNA*). *ATP*, trifosfato de adenosina.

Os interferons estimulam a imunidade mediada por célula ao ativarem as células efetoras e aumentarem o reconhecimento da célula-alvo infectada pelo vírus. Os interferons do tipo I ativam as células NK e assessoram na ativação das células T CD8. O IFN e as células NK ativadas fornecem uma defesa natural, local e inicial contra a infecção viral. O IFN-α e o IFN-β aumentam a expressão das moléculas MHC de classe I, aumentando a capacidade da célula em apresentar o antígeno, tornando a célula um alvo melhor para as células T citotóxicas (CTL). A ativação dos macrófagos pelo IFN-γ

promove a produção de mais IFN- α e IFN- β , a secreção de outros modificadores da resposta biológica, a fagocitose, a produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, o recrutamento e as respostas inflamatórias. O IFN- γ aumenta a expressão das moléculas MHC de classe II no macrófago, para auxiliar a promoção da apresentação do antígeno às células T. O interferon também possui efeitos reguladores abrangentes no crescimento celular, na síntese proteica e na resposta imune. Todos os três tipos de interferons bloqueiam a proliferação celular, quando em doses apropriadas.

O interferon recombinante, criado por engenharia genética, está sendo empregado como terapia antiviral em algumas infecções por vírus (p. ex., vírus do papiloma humano e da hepatite C). O tratamento eficaz requer o uso do(s) subtipo(s) correto(s) de interferon e a sua imediata liberação na concentração adequada. O IFN-β é usado para o tratamento da esclerose múltipla. Os interferons têm sido empregados em ensaios clínicos para o tratamento de determinados tipos de câncer. No entanto, o tratamento com interferon possui efeitos colaterais similares aos sintomas da gripe, como calafrios, febre e fadiga.

Imunidade Antígeno-específica

O objetivo da imunidade antígeno-específica é eliminar o vírus livre e as células produtoras de vírus mas, por vezes, só consegue controlar uma infecção crônica. A imunidade humoral e a imunidade mediada por célula exercem papéis diferentes na resolução das infecções virais (i.e., eliminação do vírus do corpo). A imunidade humoral (anticorpo) age principalmente nos vírus extracelulares, enquanto a imunidade mediada por célula (células T) é direcionada para a célula produtora de vírus.

Imunidade Humoral

Praticamente todas as proteínas virais são estranhas ao hospedeiro e são imunogênicas (i.e., capazes de desencadear uma resposta de anticorpo). Entretanto, nem todos os imunógenos desencadeiam a imunidade protetora.

O anticorpo bloqueia a evolução da doença mediante **neutralização e da opsonização** dos vírus livres das células. As respostas protetoras dos anticorpos são geradas para as proteínas dos capsídeos dos vírus não envelopados e para as glicoproteínas dos vírus envelopados, que interagem com os receptores da superfície celular (proteínas de fixação viral). Esses anticorpos podem neutralizar o vírus ao impedir a interação viral com as células-alvo ou por desestabilizar o vírus, iniciando assim a sua degradação. A ligação do anticorpo a essas proteínas também opsoniza o vírus, promovendo a sua captação e remoção pelos macrófagos. O reconhecimento das células infectadas pelo anticorpo também pode promover a citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC, do inglês, *antibody-dependent cellular cytotoxicity*) pelas células NK. Os anticorpos para outros antígenos virais podem ser úteis para a análise sorológica da infecção viral.

O principal papel antiviral do anticorpo é impedir a disseminação do vírus extracelular para as outras células. O anticorpo é especialmente importante na limitação da disseminação do vírus pela **viremia**, impedindo-o de alcançar o tecido-alvo para a produção de doença. O anticorpo é mais eficaz na resolução das infecções citolíticas. Nas infecções citolíticas, a resolução ocorre porque o vírus mata a "fábrica" celular e o anticorpo elimina o vírus extracelular.

Imunidade de Célula T

A imunidade mediada por células T promove as respostas de anticorpo e inflamatória (células T CD4 auxiliares) e mata as células infectadas (células T citotóxicas [primariamente células T CD8]). A resposta CD4 Th1 geralmente é mais importante do que a resposta Th2 no controle de uma infecção viral, especialmente em relação aos vírus não citolíticos e envelopados. As células T CD8 citotóxicas induzem a apoptose nas células, após o seu receptor de célula T se ligar ao peptídeo viral apresentado pela molécula do MHC de classe I na célula-alvo. Os peptídeos expressos na molécula do MHC de classe I são obtidos a partir das proteínas virais sintetizadas dentro da célula infectada (via endógena). A proteína viral da qual esses peptídeos são derivados pode não induzir anticorpos protetores (p. ex., proteínas internas do vírus, proteínas nucleares, proteínas inadequadamente dobradas ou processadas [lixo celular]). Por exemplo, a matriz e as nucleoproteínas (citoplasmáticas) do vírus influenza e a proteína-4 da célula infectada (ICP4) (nuclear) do vírus do herpes simples são alvos para os CTL, mas não induzem anticorpo protetor. Uma sinapse imune, formada pela interação entre TCR e MHC de classe I e as moléculas de adesão, cria um espaço no qual a perforina, uma proteína formadora de poro de membrana semelhante ao complemento, e as granzimas (enzimas de degradação) são liberadas para induzir a apoptose na célula-alvo. A interação da proteína Fas ligante nas células T CD4 ou CD8 com a proteína Fas na célula-alvo também pode promover a apoptose. CTL matam as células infectadas e, consequentemente, eliminam a fonte de novos vírus.

A resposta de célula T CD8 provavelmente evoluiu como uma defesa contra a infecção viral. A imunidade mediada por célula é especialmente importante na resolução das infecções por vírus formadores de sincícios (p. ex., vírus do sarampo, herpes simples, varicela-zóster, HIV), que podem espalhar-se de célula para célula, sem exposição ao anticorpo, e por vírus não citolíticos (p. ex., vírus da hepatite A e do sarampo). As células T CD8 também interagem com neurônios para controlar, sem matar, a recorrência de vírus latentes (vírus herpes simples, varicela-zóster e papilomavírus JC).

Resposta Imune ao Desafio Viral

As respostas inatas do hospedeiro são as primeiras respostas ao estímulo viral, sendo frequentemente suficientes para limitar a disseminação viral (Fig. 10-6; veja também Fig. 10-3). Os **interferons do tipo I**, produzidos em resposta à maioria das infecções virais, iniciam a proteção das células adjacentes, melhoram a apresentação de antígeno pelo aumento da expressão das moléculas do MHC e iniciam a remoção das células infectadas ativando as células NK e as respostas antígeno-específicas. Os vírus e os componentes virais, liberados das células infectadas, são fagocitados pelas **iDC** e, assim, ativam essas células para produzir citocinas e se mover para os linfonodos. Os macrófagos no fígado e no baço são especialmente importantes para remover o vírus da corrente sanguínea (filtros). Essas células fagocitárias degradam e processam os antígenos virais. As DC apresentam os fragmentos peptídicos apropriados, ligados às moléculas do MHC de classe II para as células T CD4, e também podem fazer a apresentação cruzada desses antígenos, ligados às moléculas do MHC I, para as células T CD8 iniciarem a resposta. As APC também liberam IL-1, IL-6 e TNF-α e, com a IL-12, promovem a ativação das células T auxiliares e a produção de citocina específica (resposta Th1). Os interferons do tipo I e essas citocinas induzem os sintomas prodrômicos da maioria das infecções virais, semelhantes aos da gripe. As células T ativadas se movem para o local da infecção e também para as áreas de célula B no linfonodo; os macrófagos e as células B apresentam o antígeno e se tornam estimulados pelas células T.

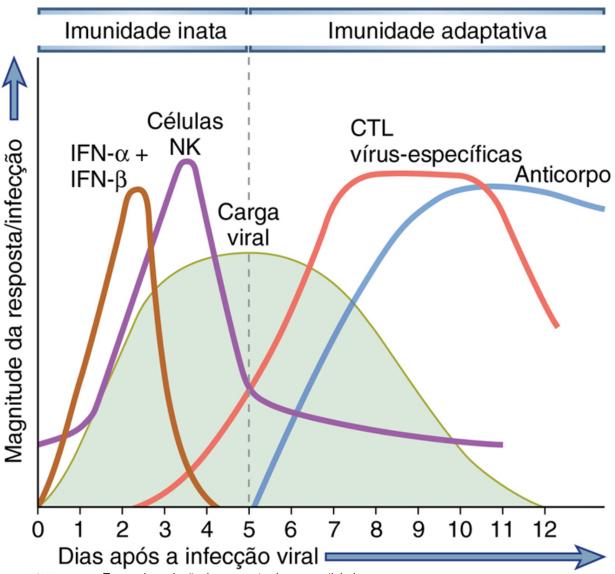


FIGURA 10-6 Tempo de evolução das respostas imunes antivirais. (Modificado de Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al: Cellular and molecular immunology, ed 8, Philadelphia, 2015, Elsevier.)

As respostas antivirais antígeno-específicas são similares às respostas antibacterianas antígeno-específicas, exceto pelo fato de a célula T CD8 exercer um papel mais importante nas respostas antivirais. A **IgM** é produzida primeiro e sua produção indica uma infecção primária. A **IgG** e a **IgA** são produzidas após 7 a 10 dias. A IgA secretora é produzida em resposta a desafios virais nas superfícies mucosas das aberturas naturais do corpo (como olhos, boca ou sistemas respiratório e gastrointestinal). As células T **CD4** e **CD8** ativadas estão presentes aproximadamente ao mesmo tempo em que a IgG sérica. Durante a infecção, a quantidade de células T CD8 específicas para o antígeno pode aumentar 100.000 vezes. As células T CD8 antígeno-específicas se movem para o local da infecção e destroem as células infectadas por vírus. O reconhecimento e a ligação ao complexo peptídeo viral-MHC de classe I promovem a morte das células-alvo por apoptose, seja pela liberação de perforina e granzimas (para romper a membrana celular), seja pela ligação do ligante de Fas

com a molécula Fas na célula-alvo. A resolução da infecção ocorre mais tarde quando há disponibilidade de anticorpos suficientes para neutralizar toda a progênie viral, ou quando a imunidade celular tiver sido capaz de alcançar e eliminar as células infectadas. Para a resolução da maioria das infecções por vírus envelopados e não citolíticos, respostas mediadas por Th1 são necessárias para matar a "fábrica" viral, em adição à neutralização dos vírus livres pelos anticorpos. As infecções virais do cérebro e do olho podem provocar danos graves porque esses tecidos não podem reparar danos teciduais e são **locais imunologicamente privilegiados**. As respostas Th1 normalmente são suprimidas para impedir a destruição grave do tecido que acompanha a inflamação prolongada. As respostas Th17 e de neutrófilos especiais são iniciadas contra vírus herpes simples e outras infecções virais do olho.

As respostas imunes mediadas por célula e de IgG não aparecem antes de seis a oito dias após um estímulo viral inicial. Para muitas infecções virais, isso ocorre após as respostas inatas terem controlado a replicação viral. Contudo, em outras infecções virais, esse período permite a expansão da infecção pelo vírus, a sua disseminação pelo corpo e a infecção do tecido-alvo, causando a doença (p. ex., cérebro: encefalite; fígado: hepatite). A resolução da infecção prolongada pode demandar uma resposta imune maior e mais intensa o que inclui, com frequência, a imunopatogênese e o dano tecidual, que causam os sintomas da doença.

Desafio Viral Secundário

Em qualquer guerra, é mais fácil eliminar um inimigo se a sua identidade e origem forem conhecidas e se for impedido o estabelecimento de sua base de operações. De modo semelhante no corpo humano, a imunidade prévia, estabelecida por infecção ou vacinação anterior, permite a mobilização rápida e específica das defesas para impedir os sintomas da doença, promover a rápida remoção do vírus e bloquear a disseminação viral do local primário da infecção para o tecido-alvo, visando impedir a doença. Como consequência, a maioria dos estímulos virais secundários é assintomática. Os anticorpos e as células T e B de memória estão presentes em um hospedeiro imune para gerar uma resposta anamnéstica (de reforço, do inglês, *booster*), mais rápida e abrangente, ao vírus. A IgA secretora antiviral é produzida rapidamente para proporcionar defesa importante contra a reinfecção pelas aberturas naturais do corpo, mas é produzida apenas temporariamente.

Os fatores do hospedeiro, dos vírus e outros fatores determinam o resultado da resposta imune a uma infecção viral. Os fatores do hospedeiro incluem o *background* genético, o *status* imunológico, a idade e a saúde geral do indivíduo. Os fatores virais incluem a cepa viral, a dose infecciosa e a rota de entrada. O tempo necessário para iniciar a proteção imune, o grau da resposta, o nível de controle da infecção e o potencial para a imunopatologia (Cap. 37) resultante da infecção diferem após uma infecção primária e um novo desafio.

Mecanismos Virais para Escapar da Resposta Imune

Um fator importante na virulência de um vírus é a sua capacidade de escapar da resposta imune. Os vírus podem escapar da resposta imune fugindo da detecção, impedindo a ativação ou bloqueando a produção da resposta imune. Exemplos específicos são apresentados na Tabela 10-3. Alguns vírus chegam a codificar proteínas especiais que suprimem a resposta imune.



Exemplos de Evasão Viral das Respostas Imunes

Mecanismos	Exemplos Virais	Ação
Resposta Humora	l	
Esconder-se do	Herpesvírus, retrovírus	Infecção latente
anticorpo	Vírus herpes simples, vírus varicela-zóster, paramixovírus, HIV	Infecção célula-célula (formação de sincícios)
Variação antigênica	Lentivírus (HIV)	Alteração genética após a infecção
	Vírus influenza	Alterações genéticas anuais (<i>drift</i>) Alterações pandêmicas (<i>shift</i>)
Secreção de antígeno bloqueador	Vírus da hepatite B	Antígeno de superfície da hepatite B
Interferon		
Bloqueio da produção	Vírus da hepatite B	Inibição da transcrição do IFN
	Vírus Epstein-Barr	Análogo da IL-10 (BCRF-1) bloqueia a produção de IFN-γ
Bloqueio da ação	Adenovírus	Inibe a regulação positiva da expressão do MHC; VA1 bloqueia a ativação pelo RNA de fita dupla, da proteína quinase (PKR) induzida por interferon
	Vírus herpes simples	Inativa a PKR e ativa a fosfatase (PP1) para reverter a inativação do fator de iniciação da síntese de proteína
Função da Célula	Imune	
Enfraquecimento da função da DC	Sarampo, hepatite C	Indução do IFN-β, que limita a função da DC
Enfraquecimento das	Vírus herpes simples	Prevenção da morte pelas células T CD8
funções dos linfócitos	HIV	Mata células T CD4 e altera os macrófagos
mnocitos	Vírus do sarampo	Supressão das células NK, T e B
Fatores imunossupressores	Vírus Epstein-Barr	Supressão das respostas de célula T auxiliar CD4 Th1 pelo BCRF-1 (similar à IL-10)
Apresentação de A	Antígeno Diminuída	
Expressão reduzida de MHC de classe Ic	Adenovírus 12	Inibição da transcrição do MHC de classe I; a proteína de 19 kDa (gene E3) se liga à cadeia pesada do MHC de classe I, bloqueando sua translocação para a superfície
	Citomegalovírus	A proteína H301 bloqueia a expressão de superfície da β_2 -microglobulina e das moléculas de MHC de classe I
	Vírus do herpes simples	ICP47 bloqueia o TAP, impedindo que o peptídeo entre no RE e se ligue às moléculas do MHC de classe I
Inibição da Inflam	ação	
	Poxvírus, adenovírus	Bloqueio da ação da IL-1 ou do fator de necrose tumoral (TNF)

DC, célula dendrítica; ICP47, proteína 47 da célula infectada; HIV, vírus da imunodeficiência humana; IFN, interferon; IL, interfeucina; MHC I, molécula classe I do complexo principal de histocompatibilidade; NK, natural killer, PMN, neutrófilo polimorfonuclear; RE, retículo endoplasmático; TAP, transportador associado ao processamento do antígeno.

Imunopatogênese Viral

Os sintomas de muitas doenças virais são a consequência da ação de citocinas ou das respostas imunes exageradas. Os sintomas similares aos da gripe do vírus da influenza, e de qualquer vírus que estabeleça uma viremia (p. ex., arbovírus), são o resultado da resposta do interferon e de outras citocinas induzidas pelo vírus. As interações do anticorpo com grandes quantidades de antígeno viral no sangue, tais como as que ocorrem na infecção pelo vírus da hepatite B, podem levar às doenças por imunocomplexo. A erupção do sarampo, o amplo dano tecidual no cérebro associado à encefalite pelo vírus do herpes simples (-ite significa "inflamação"), o dano tecidual e os sintomas da hepatite são o resultado das respostas

imune e inflamatória mediadas por célula. As respostas de célula NK e de célula T mais agressivas nos adultos exacerbam algumas doenças que são benignas nas crianças, tais como a varicela pelo vírus *varicella-zoster*, a mononucleose infecciosa pelo vírus Epstein-Barr e a infecção pelo vírus da hepatite B. Ainda, a falta de uma resposta como essa nas crianças as torna propensas à hepatite B crônica, porque a resposta é insuficiente para matar as células infectadas e resolver a infecção. A infecção viral pode também fornecer o gatilho de ativação inicial que permite que o sistema imune responda a antígenos próprios e cause doenças autoimunes.

As doenças autoimunes podem resultar de uma quebra da tolerância periférica mediada por células Treg, seguida por uma tempestade de citocinas produzida em resposta a uma infecção viral, tal como a gripe. Em uma pessoa que está geneticamente predisposta a uma doença autoimune (associada ao tipo de MHC), isso pode permitir o início de uma resposta autorreativa de células T CD4, de anticorpos ou de células T CD8.

Respostas Imunes Específicas aos Fungos

As respostas protetoras primárias à infecção por fungos são iniciadas pela ligação dos carboidratos da parede celular do fungo aos TLR e à lectina dectina-1, e são fornecidas pelos **neutrófilos**, **macrófagos e peptídeos antimicrobianos** (Quadro 10-5). **Respostas de célula T CD4 Th17 e Th1** estimulam as respostas de neutrófilos e macrófagos. Pacientes deficientes de neutrófilos ou de respostas mediadas por células T CD4 (p. ex., pacientes com AIDS) são mais suscetíveis às infecções por fungos (oportunistas). As infecções fúngicas podem ser mantidas sob controle, indetectáveis durante décadas, por respostas imunes eficazes induzidas por células T e neutrófilos, aparecendo apenas em caso de deficiência de neutrófilos ou de células T e, então, tornarem-se letais. As defensinas e outros peptídeos catiônicos podem ser importantes para algumas infecções fúngicas (p. ex., mucormicose, aspergilose), e o óxido nítrico pode ser importante contra *Cryptococcus* e outros fungos. A infecção respiratória com *Histoplasma* provoca infecção intracelular de macrófagos induzindo respostas imunes semelhantes às induzidas contra a *M. tuberculosis*. O anticorpo, como uma opsonina, pode facilitar a eliminação dos fungos, mas também pode provocar reações de hipersensibilidade causadoras de doenças. Os fungos e os esporos de fungos são alérgenos comuns e indutores de asma e alveolite alérgica.



Quadro 10-5 Resumo das Respostas Antifúngicas

Peptídeos antimicrobianos produzidos pelas células epiteliais, neutrófilos, macrófagos e outras células são uma defesa primária.

Neutrófilos são muito importantes. Eles liberam espécies reativas de oxigênio e compostos antifúngicos e fagocitam fungos.

Macrófagos são também importantes.

Respostas **Th17** reforçam as funções dos neutrófilos antifúngicos e das células epiteliais, e a produção de peptídeo antimicrobiano, mas promovem a inflamação.

Respostas **Th1** reforçam as funções dos macrófagos, mas promovem a inflamação. A formação de granulomas é importante para infecções intracelulares (*Histoplasma*).

Respostas **Th2**, por meio de imunoglobulina (Ig)G e IgA, podem bloquear a adesão de fungos e a ação de toxinas, mas a IgE pode promover alergia e asma.

Respostas Imunes Específicas aos Parasitas

É difícil generalizar os mecanismos da imunidade antiparasitária porque existem muitos parasitas diferentes, que possuem formas distintas e residem em diferentes localizações teciduais durante seus ciclos de vida (Quadro 10-6 e Tabela 10-4). Os estímulos das células T CD4 Th1, Th17, CD8 e das respostas de macrófagos são importante nas infecções intracelulares, e as respostas de neutrófilos, macrófagos e anticorpos Th2 são importantes para os parasitas extracelulares no sangue e nos fluidos. As ações de IgE, eosinófilos e mastócitos são desencadeadas e especialmente importantes para eliminar infecções por vermes (cestódeos e nematódeos). A eficiência do controle da infecção pode depender de qual resposta é iniciada no hospedeiro. O domínio de uma resposta Th2 contra as infecções por Leishmania resulta na inibição da ativação de macrófagos por Th1, na incapacidade de eliminação dos parasitas intracelulares e em um desfecho ruim. Essa observação proporcionou a base para a descoberta de que as respostas Th1 e Th2 são distintas e antagônicas. Os parasitas desenvolveram mecanismos sofisticados para evitar a sua eliminação pelo sistema imune e frequentemente estabelecem infecções crônicas.



Quadro 10-6 Resumo das Respostas Antiparasitárias

Diferentes respostas imunes são necessárias, dependendo da natureza do parasita e da fase replicativa. Muitos parasitas têm múltiplas manobras para evadir às respostas imunes.

Respostas Th2, por meio das imunoglobulinas (Ig)G e IgA, são importantes para prevenir a adesão do parasita ao tecido, para bloquear a ligação e a entrada nas células, para ativar o complemento, e como opsoninas.

A IgE ligada a mastócitos e eosinófilos liga-se ao antígeno do parasita (e ao parasita), e desencadeia a liberação de histamina e de substâncias tóxicas pelas células, para promover dano e expulsão.

As respostas Th2 ativam a secreção de muco no cólon para promover a expulsão.

Respostas Th1 são especialmente importantes para infecções intracelulares (*Leishmania*) e promovem a inflamação. A formação de granulomas é importante para infecções intracelulares (*Schistosoma*).

Respostas Th17 reforçam as ações epiteliais e neutrofílicas para parasitas extracelulares.



Tabela 10-4

Exemplos de Respostas Imunes Antiparasitárias

Parasita	Hábitat	Principal Mecanismo Efetor do Hospedeiro*	Método de Evasão
Trypanosoma brucei	Corrente sanguínea	Anticorpo + complemento	Variação antigênica
Espécies de <i>Plasmodium</i>	Hepatócito, eritrócito	Anticorpos, citocinas, Th1 para hepatócitos	Crescimento intracelular, infecção dos eritrócitos, variação antigênica
Toxoplasma gondii	Macrófago	Metabólitos do O ₂ , NO, enzimas lisossomais (Th1)	Inibição da fusão com lisossomos
Trypanosoma cruzi	Muitas células	Metabólitos do O ₂ , NO, enzimas lisossomais (Th1)	Fuga para o citoplasma evitando, assim, a digestão no lisossomo
Espécies de <i>Leishmania</i>	Macrófago	Metabólitos do O ₂ , NO, enzimas lisossomais (Th1)	Inviabilização da explosão oxidativa (<i>burst</i>) do O ₂ e sequestro de seus metabólitos; evita a digestão
Trichinella spiralis	Intestino, sangue, músculo	Células mieloides, anticorpo + complemento (Th2)	Encistamento no músculo
Schistosoma mansoni	Pele, sangue, pulmões, veia porta	Células mieloides, anticorpo + complemento (Th2)	Aquisição de antígenos do hospedeiro, bloqueio do anticorpo; antígenos solúveis e imunocomplexos antioxidantes
Wuchereria bancrofti	Sistema linfático	Células mieloides, anticorpo + complemento (Th2)	Cutícula extracelular espessa; antioxidantes
Helmintos	Intestino	IgE	Cutícula extracelular

Adaptada de Roitt I, Brostoff J, Male D, et al: Immunology, ed 4, St Louis, 1996, Mosby.

IgE, imunoglobulina E; NO, óxido nítrico; Th, T auxiliar (célula).

Os parasitas extracelulares, tais como *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* e as espécies de *Leishmania*, são fagocitados pelos **macrófagos**. O **anticorpo** pode facilitar (opsonização) a captação dos parasitas. A morte dos parasitas se segue à ativação do macrófago pelo IFN-γ (produzido pelas células NK, Tγ/δ ou células CD4 Th1) ou pelo TNF-α (produzido por outros macrófagos) e à indução dos **mecanismos de eliminação dependentes de oxigênio** (peróxido, superóxido, óxido nítrico). Os parasitas podem replicar-se no macrófago e esconder-se da subsequente detecção imune, a menos que o macrófago seja ativado pelas respostas Th1.

A produção de IFN-γ e a ativação dos macrófagos pelas células Th1 também são essenciais para a defesa contra os protozoários intracelulares e para o desenvolvimento de **granulomas** em torno dos ovos e dos vermes de *Schistosoma mansoni* no fígado. O granuloma, formado por camadas de células inflamatórias, protege o fígado das toxinas produzidas pelos ovos. Entretanto, o granuloma também provoca fibrose, a qual interrompe o suprimento de sangue venoso ao fígado, levando à hipertensão e à cirrose.

Os **neutrófilos** fagocitam e matam os parasitas extracelulares por meio de mecanismos, tanto dependentes quanto independentes de oxigênio. Os **eosinófilos** localizam os parasitas próximos, se ligam à IgG ou à IgE na superfície das larvas ou vermes (p. ex., helmintos, *S. mansoni* e *Trichinella spiralis*), degranulam-se fundindo seus grânulos intracelulares com a membrana plasmática, e liberam a **proteína básica principal** no espaço intercelular. A proteína básica principal é tóxica para o parasita.

Nas infecções parasitárias por vermes, a IL-4 e outras citocinas produzidas pelas células epiteliais, pelas células linfoides inatas e pelas células T CD4 Th2 são muito importantes na estimulação da produção de IgE e na ativação dos mastócitos

^{*} O anticorpo é mais importante para os patógenos extracelulares. A imunidade mediada por célula (resposta Th1) é mais importante para os patógenos intracelulares.

(Fig. 10-7). A IgE ligada aos receptores de Fc nos mastócitos direciona as células para os antígenos do parasita infectante. No lúmen intestinal, a ligação cruzada entre o antígeno e as moléculas de IgE, fixadas na superfície do mastócito, estimula a liberação de histamina e de substâncias tóxicas para o parasita. As respostas Th2 também promovem a secreção de muco para cobrir e promover a expulsão do verme.

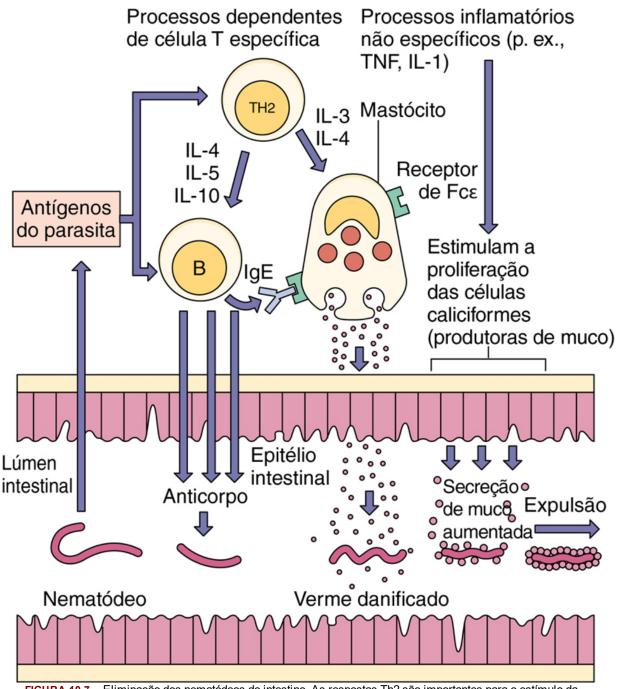


FIGURA 10-7 Eliminação dos nematódeos do intestino. As respostas Th2 são importantes para o estímulo da produção de anticorpos. O anticorpo pode danificar o verme. A imunoglobulina E (*IgE*) está associada aos mastócitos e à liberação de histamina e de substâncias tóxicas. A secreção aumentada de muco também promove a expulsão. *IL*, interleucina; *TNF*, fator de necrose tumoral.(De Roitt I, Brostoff J, Male D, et al: *Immunology*, ed 4, St Louis, 1996. Mosby.)

O anticorpo IgG também exerce um papel importante na imunidade antiparasitária como uma opsonina e pela ativação do complemento na superfície do parasita.

A malária representa um desafio interessante para a resposta imune. Anticorpos protetores são produzidos contra proteínas de adesão e outras proteínas de superfície, mas estas diferem em cada um dos estádios do desenvolvimento do parasita. Respostas Th1 e de CTL podem ser importantes durante as fases de infecção no fígado. Enquanto está no eritrócito, o parasita fica escondido do anticorpo, irreconhecível pelos CTL, mas pode estimular as respostas de células NK e NKT. Citocinas, especialmente TNF-α, produzidas por essas células, promovem proteção, mas também imunopatogênese. Imunocomplexos, contendo componentes do parasita da malária e restos celulares liberados após a lise de eritrócitos, podem obstruir pequenos capilares e ativar reações de hipersensibilidade do tipo III (veja adiante), promovendo dano tecidual inflamatório.

Fuga do Sistema Imune pelos Parasitas

Os parasitas animais desenvolveram mecanismos notáveis para estabelecer infecções crônicas em hospedeiros vertebrados (Tabela 10-4). Esses mecanismos incluem o crescimento intracelular, a inativação da morte por fagocitose, a liberação de antígeno bloqueador (p. ex., *Trypanosoma brucei, Plasmodium falciparum*) e o desenvolvimento de cistos (p. ex., protozoários: *Entamoeba histolytica*; helmintos: *T. spiralis*) para limitar o acesso por parte da resposta imune. Os tripanossomos africanos podem modificar geneticamente os genes do seu antígeno de superfície (glicoproteína de superfície variável) e, consequentemente, mudar a sua aparência antigênica. Os esquistossomos podem recobrir-se com antígenos do hospedeiro, incluindo as moléculas do MHC.

Outras Respostas Imunes

As respostas antitumorais e a rejeição dos tecidos transplantados são mediadas basicamente pela resposta imune Th1 (Animação 10-2). As células T CD8 citotóxicas reconhecem e eliminam os tumores que expressam peptídeos de proteínas embrionárias, proteínas que sofreram mutação ou outras proteínas nas moléculas do MHC de classe I (via endógena de apresentação do peptídeo). Essas proteínas podem ser expressas impropriamente pela célula tumoral e a resposta imune do hospedeiro pode não ser tolerante a elas. A maioria dos tumores ativa respostas de macrófagos M2, de cicatrização de feridas (remodelação tecidual e angiogênese) e promove a imunossupressão de células T.

A rejeição, pelas células T, dos **aloenxertos** usados nos transplantes de tecido é disparada pelo reconhecimento de peptídeos estranhos expressos nas moléculas do MHC de classe I também estranhas. Anticorpos gerados contra os antígenos estranhos também podem causar a rejeição do enxerto pela ativação do complemento e pela citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC). Além da rejeição do tecido transplantado por parte do hospedeiro, as células do doador de uma transfusão sanguínea ou de um transplante de tecido podem iniciar uma resposta e reagir ao (novo) hospedeiro, em uma **resposta enxerto** *versus* **hospedeiro** (GVH, do inglês, *graft-versus-host*). Um teste *in vitro* da ativação e crescimento da célula T, em uma resposta tipo GVH, é a **cultura mista de linfócitos**. A ativação geralmente é medida pela síntese de DNA de células T.

Imunopatogênese

Hipersensibilidades

Uma vez ativada, a resposta imune é algumas vezes difícil de controlar, provocando dano ao tecido. As reações de hipersensibilidade são responsáveis por muitos dos sintomas associados às infecções microbianas. As reações de hipersensibilidade ocorrem naquelas pessoas que já tiveram a imunidade estabelecida para o antígeno. *O mediador e o tempo de resposta* distinguem basicamente os quatro tipos de respostas de hipersensibilidade (Tabela 10-5).



Tabela 10-5

Reações de Hipersensibilidade

Tipo de Reação	Início (Tempo)	Características-chave	Efeitos Benéficos	Efeitos Patológicos		
Tipo I	< 30 min	Disparada por antígeno solúvel, liberação de mediadores vasoativos dependentes de IgE, seguida por reação de fase tardia	Respostas antiparasitárias e neutralização de toxina	Alergias localizadas (p. ex., febre do feno, asma) Anafilaxia sistêmica		
Tipo II	< 8 h	Anticorpo ligado à célula promove a citotoxicidade mediada por C'; ligação e modulação da função do receptor	Lise direta e fagocitose das bactérias extracelulares e de outros microrganismos suscetíveis	Destruição dos eritrócitos (p. ex., reações transfusionais, doença do Rh) Dano tecidual órgão-específico em algumas doenças autoimunes (p. ex., síndrome de Goodpasture)		
Tipo III	<8 h	Complexos antígeno-anticorpo solúveis ativam o C'	Reação inflamatória aguda no local dos microrganismos extracelulares e sua eliminação	Reação de Arthus (localizada) Doença do soro e reações a fármacos (generalizadas) Doenças autoimunes sistêmicas		
Tipo IV	24-72 h (aguda) > 1 semana (crônica)	Antígeno solúvel fagocitado apresentado às células T CD4 que ativa os macrófagos e a inflamação	Proteção contra infecções por fungos, bactérias intracelulares e vírus	Agudos: dermatite de contato, teste intradérmico da tuberculose Crônico: formação de granuloma		

A hipersensibilidade do tipo I é provocada pela IgE, estando associada às reações alérgicas, atópicas e anafiláticas (Fig. 10-8; Animação 10-3). As reações alérgicas mediadas por IgE são de início rápido. A IgE se liga aos receptores de Fc nos mastócitos e se torna o receptor de superfície celular para os antígenos (alérgenos). A ligação cruzada, envolvendo várias moléculas de IgE na superfície celular para um alérgeno (p. ex., pólen), dispara a degranulação liberando: quimioatrativos (quimiocinas, leucotrienos) para atrair os eosinófilos, neutrófilos e células mononucleares; ativadores (histamina, fator ativador de plaqueta, triptase, cininogenase, citocinas) que promovem a vasodilatação e o edema; e espasmógenos (histamina, prostaglandina D₂, leucotrienos) que afetam diretamente a musculatura lisa dos brônquios e promovem a secreção de muco. A dessensibilização (pequenos estímulos alérgicos) produz IgG para se ligar ao alérgeno e impedir a sua ligação à IgE. Após 8 a 12 horas, uma reação de fase tardia se desenvolve graças à infiltração de eosinófilos, células T CD4 e citocinas, reforçando a inflamação.

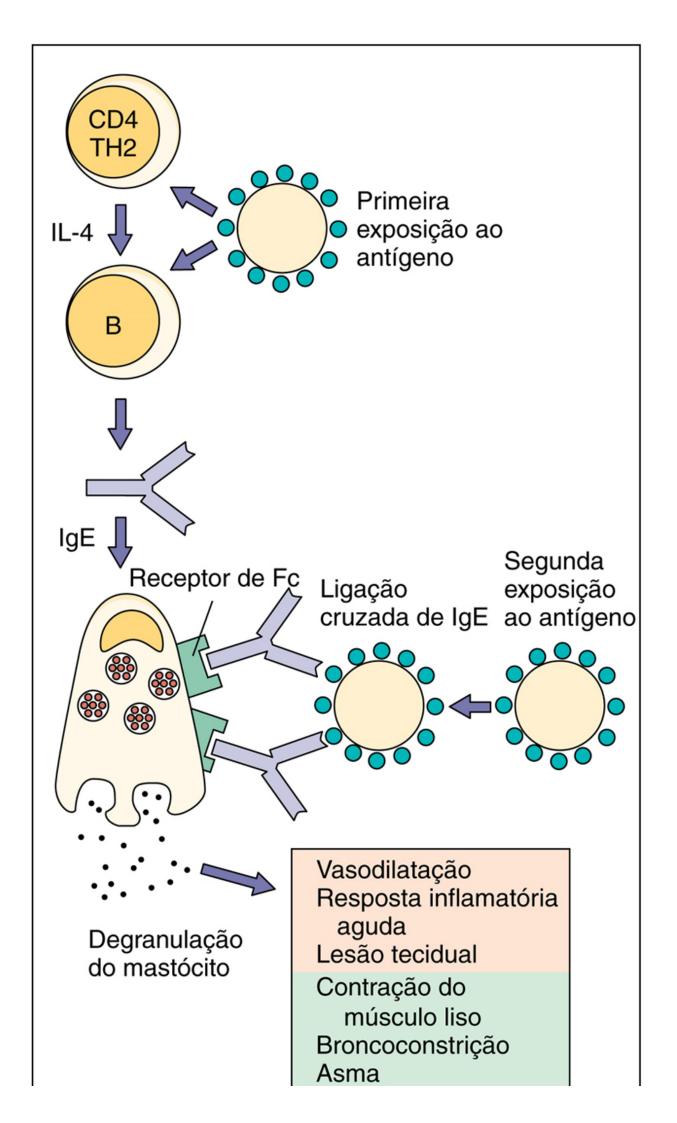


FIGURA 10-8 Hipersensibilidade do tipo I: reações anafiláticas e atópicas mediadas pela imunoglobulina E (*IgE*). A IgE produzida em resposta ao desafio inicial se liga aos receptores de Fc nos mastócitos e basófilos. A IgE fixada à superfície celular efetua ligação cruzada com o alérgeno, o que promove a liberação de histamina e prostaglandinas dos grânulos, gerando os sintomas. Alguns exemplos são a febre do feno, a asma, a alergia à penicilina e a reação às picadas de abelha. *IL*, interleucina; *Th*, T auxiliar (célula).

A hipersensibilidade do tipo II é provocada pela ligação do anticorpo às moléculas da superfície celular. O anticorpo pode promover respostas citotóxicas pela cascata clássica do complemento ou pela citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) (Fig. 10-9). Essas reações ocorrem até oito horas após um transplante de tecido ou sangue ou como parte de uma doença crônica. Alguns exemplos dessas reações são a anemia hemolítica autoimune e a síndrome de Goodpasture (danos à membrana basal dos pulmões e rins). Outro exemplo é a doença hemolítica dos recém-nascidos (bebês azuis), que ocorre quando, em uma segunda gestação, anticorpos IgG maternos gerados para fator Rh incompatível nos eritrócitos fetais durante a primeira gravidez atravessam a placenta e lesam o segundo bebê (incompatibilidade Rh).

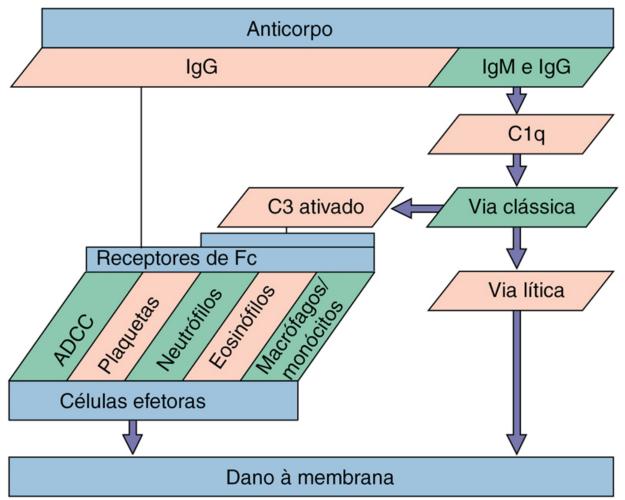


FIGURA 10-9 Hipersensibilidade do tipo II: mediada por anticorpo e complemento. A ativação do complemento promove dano celular direto por intermédio da cascata do complemento e pela ativação de células efetoras. São exemplos a síndrome de Goodpasture, a resposta ao fator Rh em recém-nascidos e as endocrinopatias autoimunes. ADCC, citotoxicidade celular dependente de anticorpo; Ig, imunoglobulina.

A ativação ou a inibição de funções efetoras por anticorpos antirreceptor também são consideradas respostas do tipo II. A miastenia *gravis* se deve aos anticorpos para os receptores de acetilcolina nos neurônios; a doença de Graves resulta da estimulação do receptor do hormônio estimulador da tireoide (TSH) pelo anticorpo, e algumas formas de diabetes podem resultar do bloqueio do receptor de insulina pelos anticorpos.

As respostas de hipersensibilidade do tipo III resultam da ativação do complemento pelos imunocomplexos (Fig. 10-10). Na presença de uma quantidade abundante de antígeno solúvel na corrente sanguínea, são formados grandes complexos antígeno-anticorpo que ficam aprisionados nos capilares (especialmente no rim) e então iniciam a cascata clássica do complemento. A ativação da cascata do complemento inicia as reações inflamatórias. A doença por imunocomplexos pode ser provocada por infecções (p. ex., hepatite B, malária, endocardite estafilocócica infecciosa, glomerulonefrite associada a estreptococos do grupo A), autoimunidade (p. ex., artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico) ou inalação constante de antígeno (p. ex., antígenos de mofo, plantas ou de animais). Por exemplo, a infecção

hepatite B produz grandes quantidades de antígeno de superfície do vírus da hepatite B, o qual pode promover a formação de imunocomplexos que levam à glomerulonefrite. As reações de hipersensibilidade do tipo III podem ser induzidas em pessoas pré-sensibilizadas pela injeção intradérmica de antígeno, que causa uma **reação de Arthus**, que é uma reação de pele caracterizada por rubor e inchaço. As imunizações anuais de reforço para a gripe podem provocar uma reação de Arthus no local da vacina, pela presença de anticorpo de uma imunização do ano anterior. A doença do soro, a alveolite alérgica extrínseca (reação a antígeno fúngico inalado) e a glomerulonefrite resultam de reações de hipersensibilidade tipo III. A doença do soro pode ser resultante da administração de imunoglobulina animal (p. ex., soro antiofídico) em várias ocasiões.

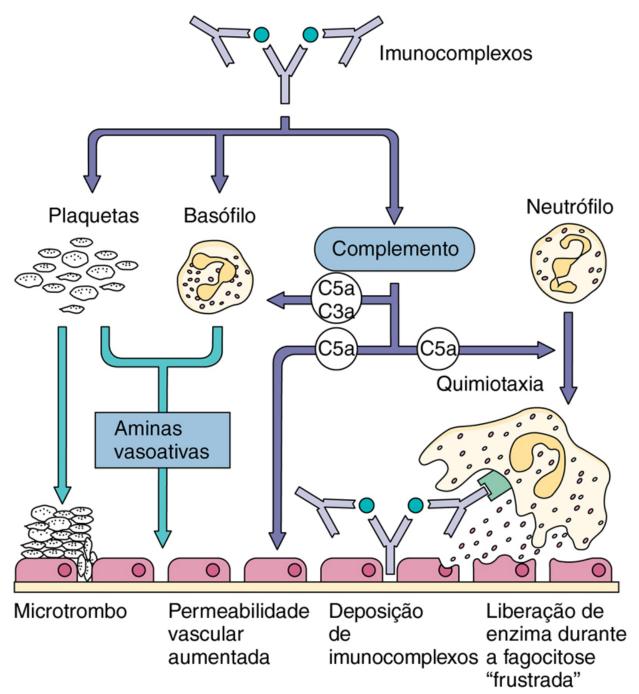


FIGURA 10-10 Hipersensibilidade do tipo III: deposição de imunocomplexos. Os imunocomplexos podem ser retidos no rim ou em qualquer outro lugar do corpo e podem ativar o complemento para promover a inflamação. Alguns exemplos são a doença do soro, a nefrite associada à hepatite B crônica e a reação de Arthus.

As respostas de hipersensibilidade do tipo IV são respostas inflamatórias de hipersensibilidade do tipo tardio mediadas por Th1 (DTH) (Fig. 10-11 e Tabela 10-6). Habitualmente, leva 24 a 48 horas para que o antígeno seja apresentado às células T CD4 circulantes, e para elas se moverem ao local da inflamação e então ativarem os macrófagos a induzirem inflamação. A DTH é responsável pela dermatite de contato (p. ex., cosméticos, níquel) e pela resposta ao veneno da hera. A injeção intradérmica do antígeno PPD (derivado proteico purificado de *M. tuberculosis*) na prova tuberculínica desencadeia uma enduração que chega ao ápice em 48 a 72 horas após a injeção, sendo indicativo da exposição prévia ao *M. tuberculosis* (Fig. 10-12). A hipersensibilidade granulomatosa ocorre com tuberculose, hanseníase, esquistossomose, sarcoidose e doença de Crohn. Formam-se granulomas em resposta à estimulação contínua pelo crescimento intracelular

do *M. tuberculosis*. Essas estruturas consistem em células epitelioides criadas a partir dos macrófagos ativados cronicamente, células epitelioides fundidas (células gigantes multinucleadas) circundadas por linfócitos, e fibrose causada pela deposição de colágeno dos fibroblastos. Os granulomas restringem a disseminação da *M. tuberculosis*, contanto que as células T CD4 possam fornecer IFN-γ.

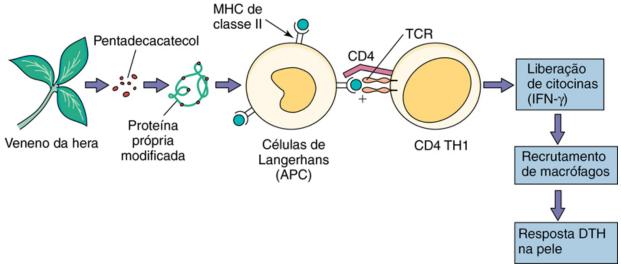


FIGURA 10-11 Hipersensibilidade do tipo IV: hipersensibilidade do tipo tardio (*DTH*) mediada por células T CD4 (*Th1*). Neste caso, proteínas próprias modificadas quimicamente são processadas e os peptídeos são apresentados às células T CD4 de memória, que circulam pela pele e liberam citocinas (incluindo o interferon-γ [IFN-γ]), que promovem a inflamação. Outros exemplos de DTH são a prova tuberculínica (teste do derivado proteico purificado de *M. tuberculosis*) e a reação a metais como o níquel. *APC*, célula apresentadora de antígeno; *TCR*, receptor de célula T.



Tabela 10-6

Características Importantes de Quatro Tipos de Reações de Hipersensibilidade do Tipo Tardio

Tipo	Tempo de Reação	Aspecto Clínico	Aspecto Histológico	Antígeno
Jones-Mote	24-48 h	Inchaço da pele	Basófilos, linfócitos, células mononucleares	Antígeno intradérmico: reação ao PPD ou outro antígeno proteico
Tuberculina	48 h	Endurecimento local e inchaço, com ou sem febre	Células mononucleares, linfócitos e monócitos; reduzidos macrófagos	Dérmico: tuberculina (PPD), micobateriano e leishmanioso
Contato	48 h	Eczema	Células mononucleares, edema, epiderme elevada	Epidérmico: níquel, borracha, veneno da hera
Granulomatoso	4 semanas	Endurecimento da pele	Granuloma de célula epitelioide, células gigantes, macrófagos, fibrose com ou sem necrose	Antígeno persistente ou complexos antígeno- anticorpo nos macrófagos ou "não imunológico" (p. ex., pó de talco)

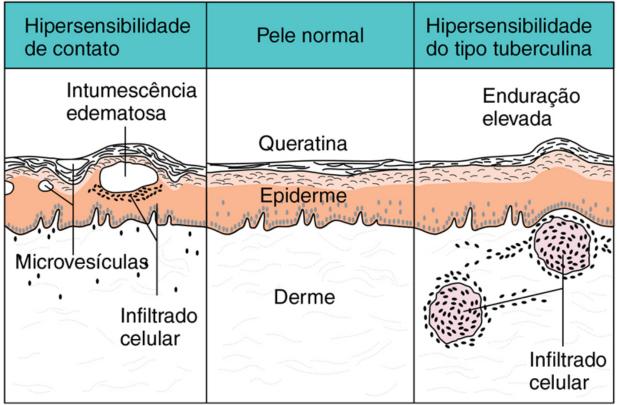


FIGURA 10-12 Respostas de hipersensibilidade de contato e tuberculínica. Essas respostas do tipo IV são mediadas por célula, mas diferem em relação ao local de infiltração celular e aos sintomas. A hipersensibilidade de contato ocorre na epiderme e leva à formação de bolhas; a hipersensibilidade do tipo tuberculina ocorre na derme, caracterizando-se por inchaço rígido (enduração).

Tempestade de Citocinas

Sepse, síndrome do choque mediado por toxina (p. ex., síndrome do choque tóxico induzida pelo *Staphylococcus*), algumas infecções virais (p. ex., síndrome respiratória aguda severa [SARS]) e influenza, e doença do enxerto *versus* hospedeiro induzem uma estimulação intensa das respostas imunes e/ou inatas produzindo excessivas quantidades de citocinas que desequilibram a fisiologia do corpo. As consequências são desregulação multissistêmica, exantema, febre e choque. Superantígenos unem TCR com moléculas de MHC de classe II nas células apresentadoras de antígenos para ativar até 20% das células T. Isso dispara uma liberação descontrolada e excessiva de citocinas produzidas pelas células T e pelos macrófagos, até que as células T morram por apoptose. Bactérias, endotoxinas ou vírus no sangue promovem produção de grandes quantidades de citocinas e interferon do tipo I pelas DC plasmocitoides, e certos vírus são ativadores muito potentes do interferon e da produção de citocinas. Grandes quantidades de TNF-α são produzidas durante a tempestade de citocinas. TNF-α pode promover processos inflamatórios, tais como extravasamento vascular aumentado e ativação de neutrófilos, que podem ser benéficos no local, mas, sistemicamente, acarretarão febre, calafrios, dores, estimulação da via da coagulação, elevação das enzimas hepáticas, perda de apetite, metabolismo aumentado, perda de peso, aumento da permeabilidade vascular e, potencialmente, choque.

Respostas Autoimunes

Normalmente, uma pessoa adquire tolerância aos autoantígenos durante o desenvolvimento das células T e B, e pelas células Treg. A autoimunidade pode ser induzida por qualquer uma ou por todas as seguintes características: aniquilação da tolerância induzida por Treg pela produção excessiva de citocinas (p. ex., tempestade de citocinas, lúpus eritematoso sistêmico), pela reatividade cruzada com antígenos microbianos (p. ex., infecção com estreptococo do grupo A, febre reumática), pela ativação policlonal dos linfócitos induzida por tumores ou infecção (p. ex., malária, infecção por vírus Epstein-Barr), por uma predisposição genética para a expressão de peptídeos autoantigênicos (associação ao MHC) ou pela perda da tolerância a antígenos específicos.

As doenças autoimunes resultam da presença de autoanticorpos, células T ativadas e reações de hipersensibilidade. Pessoas com determinados antígenos do MHC estão sob risco mais elevado de respostas autoimunes (p. ex., HLA-B27: artrite reumatoide juvenil, espondilite anquilosante). Uma vez iniciado, um ciclo é estabelecido entre células apresentadoras de antígeno e células T, as quais produzem citocinas que promovem inflamação, dano tecidual e mais autoantígenos. Respostas Th17 e Th1 são responsáveis pela artrite reumatoide e outras doenças.

Imunodeficiência

A imunodeficiência pode resultar de deficiências genéticas, inanição, imunossupressão induzida por medicamento (p. ex., tratamento com esteroides, quimioterapia do câncer, supressão quimioterápica da rejeição de enxerto tecidual) câncer (especialmente de células imunes) ou doença (p. ex., AIDS) e ocorre naturalmente nos recém-nascidos e nas mulheres grávidas. Deficiências nas respostas protetoras específicas colocam um paciente sob alto risco de doença grave provocada por agentes infecciosos que deveriam ser controlados por aquelas respostas (Tabela 10-7). Esses "experimentos naturais" ilustram a importância das respostas específicas no controle de infecções específicas.



Tabela 10-7

Infecções Associadas a Defeitos nas Respostas Imunes

Defeito	Patógeno
Indução por meios físicos (p. ex., queimaduras, trauma)	Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis Streptococcus pyogenes Aspergillus spp. Candida spp.
Esplenectomia	Bactérias encapsuladas e fungos
Defeitos no movimento e fagocitose dos granulócitos e monócitos, ou morte ou redução no número de células (neutropenia)	S. aureus S. pyogenes Haemophilus influenzae Bacilos Gram-negativos Escherichia coli Klebsiella spp. P. aeruginosa Nocardia spp. Aspergillus spp. Candida spp.
Componentes individuais do sistema complemento	S. aureus Streptococcus pneumoniae Pseudomonas spp. Proteus spp. Neisseria spp.
Células T	Citomegalovírus Vírus herpes simples Vírus herpes-zoster Herpesvírus humano 8 Listeria monocytogenes Mycobacterium spp. Nocardia spp. Aspergillus spp. Candida spp. Cryptococcus neoformans Histoplasma capsulatum Pneumocystis jirovecii Strongyloides stercoralis
Células B	Enterovírus S. aureus Streptococcus spp. H. influenzae Neisseria meningitides E. coli Giardia lamblia P. jirovecii
Imunodeficiência combinada	Veja os patógenos listados paras as células T e B

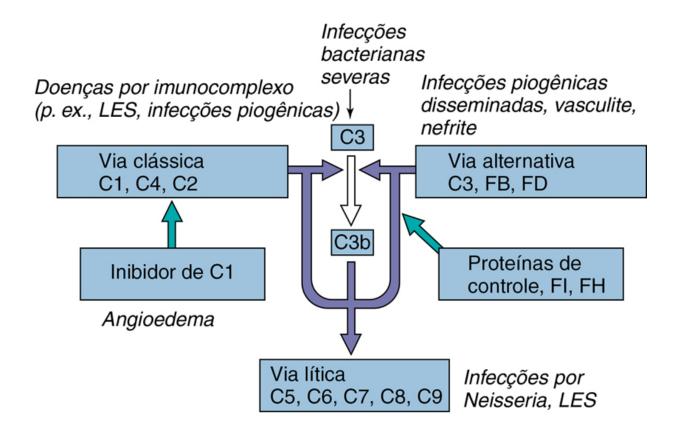
Imunossupressão

A terapia de imunossupressão é importante para reduzir as respostas inflamatórias ou imunes excessivas ou para impedir a rejeição do tecido transplantado pelas células T. A terapia atua nos sintomas, no ativador ou no mediador da resposta. O ácido acetilsalicílico e os anti-inflamatórios não esteroides (AINE) atuam nas ciclo-oxigenases, que geram as

prostaglandinas inflamatórias (p. ex., PGD₂), e na dor. Outros **tratamentos anti-inflamatórios** se focam na produção e na ação de TNF- α , IL-12 e IL-1. Os corticosteroides impedem a sua produção pelos macrófagos e podem ser tóxicos para as células T. Formas solúveis do receptor de TNF- α e do anticorpo para o TNF- α podem ser usadas para bloquear a ligação do TNF- α e impedir a sua ação. Anticorpos para outras citocinas, proteínas de adesão nas células T ou nas células apresentadoras de antígenos e antagonistas do CD28 podem bloquear a ativação das respostas inflamatórias e outras respostas pela célula T. A **terapia imunossupressora para transplante** geralmente inibe a ação das células T ou provoca a sua lise. A ciclosporina, o tacrolimus (FK-506) e a rapamicina impedem a ativação das células T (Fig. 9-3). O anti-CD40 ligante e o anti-IL-2 impedem a ativação das células T, enquanto o anti-CD3 promove a lise das células T pelo complemento, com o objetivo de suprimir as respostas de célula T. As terapias anti-TNF- α e outras terapias ablativas aumentam o risco de doença pela *M. tuberculosis*, e a anti- α 4 integrina (terapia antimolécula de adesão celular) aumenta o risco de reativação da doença pelo vírus JC (leucoencefalopatia multifocal progressiva).

Deficiências Hereditárias do Complemento e a Infecção Microbiana

As **deficiências** hereditárias dos componentes **C1q**, **C1r**, **C1s**, **C4** e **C2** estão associadas a defeitos na ativação da via clássica do complemento que levam a uma maior suscetibilidade às infecções estafilocócicas e estreptocócicas piogênicas (produtoras de pus) (Fig. 10-13). Essas bactérias não são controladas pelas respostas induzidas pelas células Τγ/δ. Uma **deficiência de C3** leva a um defeito na ativação das vias clássica e alternativa do complemento, o que também resulta em incidência mais elevada de infecções piogênicas. **Defeitos dos fatores da properdina** prejudicam a ativação da via alternativa, o que também gera uma suscetibilidade maior às infecções piogênicas. Por fim, as **deficiências de C5 a C9** estão associadas à destruição celular ineficiente, o que aumenta a suscetibilidade de infecções disseminadas pelas espécies de *Neisseria*.



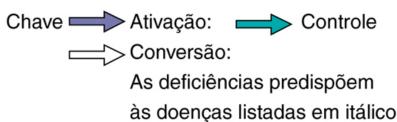


FIGURA 10-13 Consequências das deficiências nas vias do complemento. Uma deficiência na ativação ou controle do complemento pode levar à doença. A resposta fagocitária para infecções bacterianas é comprometida quando há deficiência de C3a e C5a. O fator B se liga ao C3b nas superfícies celulares e a serina protease D plasmática cliva e ativa B-C3b, como parte da via alternativa. Os fatores FI e FH limitam a ativação inapropriada do complemento. O FH se liga ao C3b e impede a ativação, sendo um cofator para o FI. O FI é uma serina protease que cliva C3b e C4b. LES, lúpus eritematoso sistêmico.

Defeitos na Ação do Fagócito

As pessoas com fagócitos defeituosos são mais suscetíveis às infecções bacterianas, mas não às infecções virais ou por protozoários (Fig. 10-14). A relevância clínica da eliminação dependente de oxigênio é ilustrada pela doença granulomatosa crônica nas crianças que têm carência de enzimas (p. ex., NADPH oxidase) e que não conseguem formar ânions superóxido. Apesar de a fagocitose ser normal, essas crianças têm a capacidade prejudicada de oxidar a NADPH e destruir as bactérias e fungos pela via oxidativa. Nos pacientes com síndrome de Chédiak-Higashi, os grânulos dos neutrófilos se fundem quando as células estão imaturas na medula óssea. Assim, os neutrófilos desses pacientes podem fagocitar as bactérias, mas têm uma capacidade bastante reduzida de matá-las. Granulomas são formados ao redor do fagócito infectado para controlar a infecção. Os indivíduos asplênicos estão sob risco de infecção com organismos encapsulados porque carecem do mecanismo de filtração exercido pelos macrófagos do baço. Outras deficiências são exibidas na Figura 10-14.

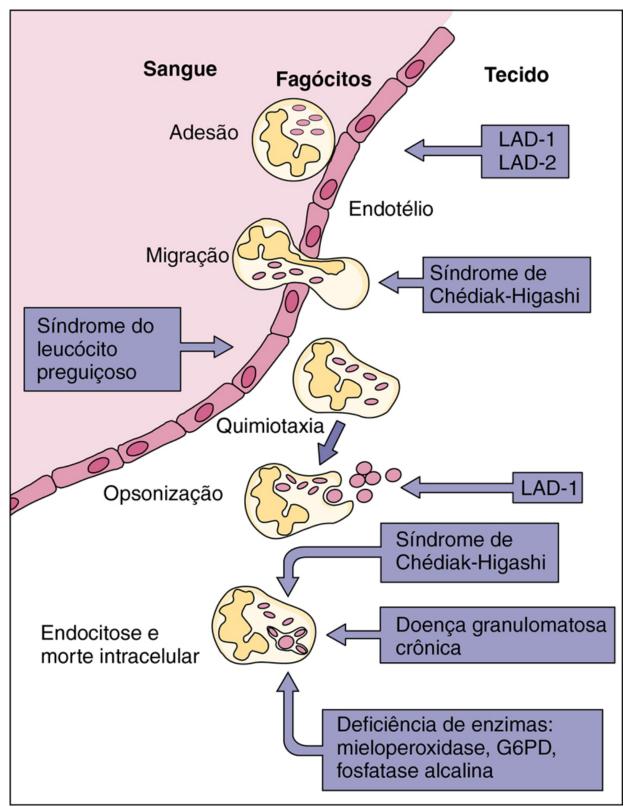


FIGURA 10-14 Consequências da disfunção do fagócito. A incapacidade de detectar ou acessar uma infecção ou de ligar, internalizar, ou matar as bactérias internalizadas aumenta a suscetibilidade à doença bacteriana grave. *G6PD*, glicose-6-fosfato desidrogenase; *LAD-1*, deficiência da adesão leucocitária tipo 1.

Deficiências nas Respostas Imunes Antígeno-específicas

As pessoas com deficiência na **função da célula T** são suscetíveis a **infecções oportunistas** por: (1) vírus, especialmente os envelopados e não citolíticos, e a recorrências de vírus que estabelecem infecções latentes; (2) bactérias intracelulares; (3) fungos e (4) alguns parasitas. As deficiências de célula T também podem impedir a maturação das respostas de anticorpos de célula B. As deficiências de célula T podem surgir de desordens genéticas (p. ex., síndrome da imunodeficiência ligada ao X, doença de Duncan, síndrome de DiGeorge) (Tabela 10-8), infecção (p. ex., HIV e AIDS), quimioterapia do câncer ou terapia imunossupressora para transplante de tecido.



Imunodeficiências dos Linfócitos

Condição	Nº de Células T	Função da Célula T	Nº de Células B	Anticorpos Séricos	Incidência*	
XLA, Síndrome de Bruton	√	√	$\downarrow\downarrow$	1	Rara	
Deficiência de RAG1 ou RAG2	$\downarrow\downarrow$	↓ ↓	$\downarrow\downarrow$	Nenhum	Rara	
X-SCID	$\downarrow\downarrow$	↓	1	1	Rara	
XLP, Síndrome de Duncan	√	↓	1	√ou↓	Rara	
X-hiper IgM (mutação no CD40 ou CD40L)	√	ļ	V	IgM ↑↑ Ausência de IgG, IgE ou IgA	Rara	
Síndrome de Wiskott-Aldrich	√	↓	√	↓	Rara	
SCID: deficiência de ADA ou PNP	$\downarrow\downarrow$	$\downarrow\downarrow$	1	↓	Muito rara	
Deficiência de HLA	↓	↓	V	Resposta antigênica fraca	Muito rara	
Ataxia-telangiectasia	↓	↓	√	IgE ↓, IgA ↓, Ig G_2 ↓	Incomum	
Síndrome de DiGeorge	$\downarrow\downarrow$	↓	V	IgG ↓, IgE ↓, IgA ↓	Muito rara	
Deficiência de IgA	√	√	√	IgA↓	Comum	

Modificada de Brostoff J, Male DK: Clinical immunology: an illustrated outline, St Louis, 1994, Mosby.

A resposta de célula T dos **recém-nascidos** é deficiente, mas é complementada pela IgG materna. Respostas Th1 insuficientes e deficiência de IFN-γ os coloca em alto risco para infecções por herpesvírus. De modo semelhante, as **crianças** montam respostas inflamatórias e imunes mediadas por célula menos pronunciadas (em comparação com os adultos), proporcionando a diminuição da gravidade das infecções por herpesvírus (p. ex., mononucleose infecciosa, catapora) e das infecções pelo vírus da hepatite B; mas, por outro lado, há aumento do potencial para o estabelecimento de hepatite B crônica em decorrência de sua resolução incompleta. A gravidez também induz ações imunossupressoras para impedir a rejeição do feto (um tecido estranho).

As deficiências de célula B podem resultar em completa ausência de produção de anticorpos (hipogamaglobulinemia), incapacidade de mudança de classe ou incapacidade de produção de subclasses específicas de anticorpo. As pessoas com deficiência na produção de anticorpos são muito suscetíveis às **infecções bacterianas**. A deficiência de IgA, que ocorre em 1 a cada 700 caucasianos, resulta em maior suscetibilidade a **infecções respiratórias**.

Referências Bibliográficas

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, et al. Cellular and molecular immunology. ed 6 Philadelphia: WB Saunders; 2007.

Alcami A, Koszinowski UH. Viral mechanisms of immune evasion. Trends Microbiol. 2000;8:410-418.

DeFranco AL, Locksley RM, Robertson M. *Immunity: the immune response in infectious and inflammatory disease*. Sunderland, Mass: Sinauer Associates; 2007.

Janeway CA, Travers P, Walport M, et al. Immunobiology: the immune system in health and disease. ed 6 New York: Garland Science; 2004.

Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Kuby immunology. ed 6 New York: WH Freeman; 2007.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. ed 7 Philadelphia: Elsevier; 2005.

Male D. Immunology. ed 4 London: Elsevier; 2004.

Mims C, Dockrell HM, Goering RV, et al. Medical microbiology. ed 3 London: Elsevier; 2004.

Novak R. Crash course immunology. Philadelphia: Mosby; 2006.

Rosenthal KS. Are microbial symptoms "self-inflicted"? The consequences of immunopathology. Infect Dis Clin Pract. 2005;13:306–310.

Rosenthal KS. Vaccines make good immune theater: immunization as described in a three-act play. Infect Dis Clin Pract. 2006;14:35–45.

Rosenthal KS, Wilkinson JG. Flow cytometry and immunospeak. Infect Dis Clin Pract. 2007;15:183-191.

Sompayrac L. How the immune system works. ed 2 Malden, Mass: Blackwell Scientific; 2003.

Trends Immunol: Issues contain understandable reviews on current topics in immunology.

^{√,} Normal; ↑ elevada; ↓ reduzida ou defeituosa; *ADA*, adenosina desaminase; *Ag*, antígeno; *HLA*, antígeno leucocitário humano; *Ig*, imunoglobulina; *PNP*, purina nucleosídeo fosforilase; *RAG*, gene ativador de recombinação; *XLA*, agamaglobulinemia ligada ao X; *XLP*, síndrome linfoproliferativa ligada ao X; *X-SCID*, doença de imunodeficiência combinada severa, ligada ao X.

^{*} Incidência aproximada: Muito rara = $< 10^{-6}$; rara = 10^{-5} a 10^{-6} ; comum = 10^{-2} a 10^{-3} .

CAPÍTULO 11

Vacinas Antimicrobianas

A imunidade, seja gerada em resposta a uma infecção ou imunização, seja administrada como terapêutica, pode impedir ou diminuir os sintomas graves das doenças. As respostas imunes de memória ativadas, após a estimulação de um indivíduo imunizado, são mais rápidas e mais fortes do que em um indivíduo não imunizado. A imunização de uma população, como a imunidade pessoal, interrompe a propagação do agente infeccioso mediante redução do número de hospedeiros suscetíveis (imunidade populacional).

Os programas de imunização em âmbitos nacional e internacional têm alcançado os seguintes objetivos:

- 1. Proteção de grupos populacionais dos sintomas da tosse convulsa (coqueluche), difteria, tétano e raiva
- 2. Proteção e controle da propagação do sarampo, cachumba, rubéola, varicela-zóster, *influenza*, rotavírus e *Haemophilus influenzae* tipo B (Hib)
- 3. Eliminação da poliomielite de tipo selvagem na maior parte do mundo e da varíola em todo o mundo

Em conjunto com os programas de imunização, podem ser tomadas medidas para prevenir a doença, limitando a exposição de pessoas saudáveis a pessoas infectadas (**quarentena**) e eliminando a fonte (p. ex., pela purificação da água) ou meio de propagação (p. ex., pela erradicação do mosquito) do agente infeccioso. A partir de 1977, a forma natural da varíola foi eliminada com um programa bem-sucedido da Organização Mundial da Saúde (OMS), que combinava a vacinação e a quarentena. A poliomielite e o sarampo também foram considerados alvos de eliminação.

As doenças passíveis de prevenção por vacina ainda ocorrem, no entanto, em locais onde a imunização não se encontra disponível, onde é dispendiosa (países em desenvolvimento) ou onde a veiculação de informações erradas, as crenças pessoais ou a complacência impedem o seu uso. Por exemplo, os surtos de sarampo, que causam 2 milhões de mortes por ano em todo o mundo, continuam a ocorrer nos Estados Unidos por todas essas razões.

Tipos de Imunizações

A injeção de anticorpos purificados, de soro contendo anticorpos ou de células do sistema imunológico, para fornecer proteção temporária rápida ou tratamento de uma pessoa, é denominada de **imunização passiva**. Os recém-nascidos recebem imunidade passiva natural a partir da imunoglobulina materna que atravessa a placenta ou está presente no leite da mãe. Os anticorpos terapêuticos que bloqueiam as respostas autoimunes e as terapias de celulas-T personalizadas ou antitumoral de células dendríticas são também formas de imunidade passiva.

A **imunização ativa** ocorre quando uma resposta imune é desencadeada por causa da estimulação com um agente imunogênico, tal como a exposição a um agente infeccioso (**imunização natural**) ou pela exposição a micróbios ou aos seus antígenos por intermédio de **vacinas**. Na subsequente estimulação com o agente virulento, é ativada uma resposta imune secundária que é mais rápida e mais eficaz na proteção do indivíduo, ou existem anticorpos que estão presentes para bloquear a propagação ou virulência do agente.

Imunização Passiva

A imunização passiva pode ser usada para:

- 1. Prevenir a doença após uma exposição conhecida (p. ex., acidentes com agulhas contendo sangue que está contaminado com o vírus da hepatite B [VHB])
- 2. Melhorar os sintomas de uma doença em curso
- 3. Proteger os indivíduos imunodeficientes
- 4. Bloquear a ação de toxinas bacterianas e venenos e prevenir as doenças que eles causam (i.e., como terapêutica)

As preparações de imunoglobulina sérica derivadas de seres humanos ou animais soropositivos (p. ex., cavalos) estão disponíveis como profilaxia de várias doenças virais e bacterianas (Tabela 11-1). A globulina de soro humano é preparada a partir de um *pool* de plasma e contém o repertório de anticorpos normal para um adulto. As preparações especiais de imunoglobulinas de título elevado estão disponíveis para o vírus da hepatite B (HBIg), vírus varicela-zóster (VZIg), raiva (RIg) e tétano (TIg). A imunoglobulina humana é preferível à imunoglobulina animal porque existe risco, ainda que baixo, de reação de hipersensibilidade (doença do soro).



Imunoglobulinas Disponíveis para a Imunidade Passiva

Doença	Fonte
Hepatite A	Humana
Hepatite B	Humana
Sarampo	Humana
Raiva	Humana [†]
Varicela, varicela-zóster	Humana [†]
Citomegalovírus	Humana
Tétano	Humana,† equina
Botulismo	Equina
Difteria	Equina
Vírus sincicial respiratório	Monoclonal

Podem estar também disponíveis imunoglobulinas para outros agentes.

Estão em desenvolvimento preparações de anticorpos monoclonais para a proteção contra vários agentes e doenças. Além das doenças infecciosas, os anticorpos monoclonais estão sendo usados na terapêutica de bloqueio de respostas exacerbadas de citocinas e de respostas celulares nas doenças autoimunes, na indução de respostas antitumor e em outras terapêuticas. Células dendríticas autólogas ativadas, carregadas com antígenos tumorais e células T antitumorais ativadas, podem ser preparadas no laboratório a partir de células do próprio paciente e injetadas de volta no paciente com cancer, como imunoterapia.

Imunização Ativa

O termo *vacina* é derivado do vírus da *vaccinia*, um membro menos virulento da família poxvírus, que é usada para imunizar pessoas contra a varíola. As vacinas clássicas podem ser subdivididas em dois grupos de acordo com a resposta imune que provocam (*vacinas vivas* tais como a *vaccinia*) ou não provocam (*vacinas de subunidade inativada-morta*) (Fig. 11-1) à infecção. As *vacinas de ácido desoxirribonucleico* (*DNA*) representam uma nova forma de imunização. Nesta abordagem, o DNA de plasmídeo é injetado no músculo ou na pele e, em seguida, captado por células dendríticas, células musculares ou macrófagos, que expressam o gene para o imunogênio como se fosse em relação a uma infecção natural. A vacinação com DNA estimula as respostas imunitárias de células T, que podem ser potencializas com o antígeno para provocar respostas de anticorpos maduros.

[†] Estão disponíveis anticorpos específicos de alto título, sendo a terapêutica de eleição.

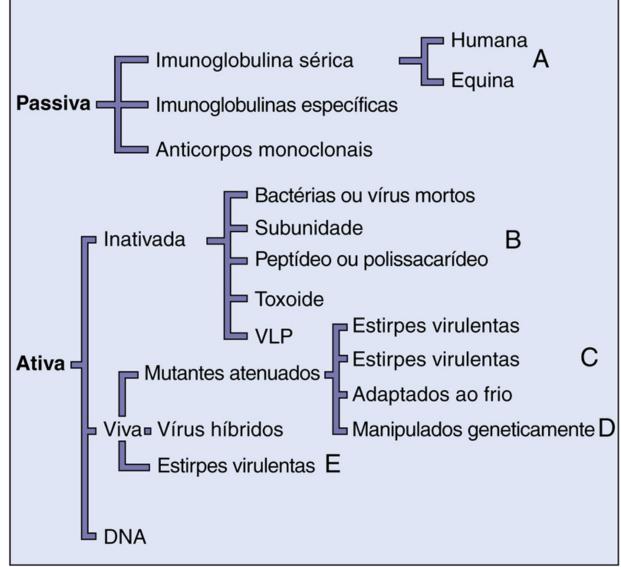


FIGURA 11-1 Tipos de imunizações. Os anticorpos (imunização passiva) podem ser fornecidos para bloquear a ação de um agente infeccioso, ou uma resposta imune pode ser provocada (imunização ativa) por uma infecção natural ou pela vacinação. As diferentes formas de imunização passiva e ativa encontram-se indicadas. A, Anticorpos equinos podem ser usados se não estiverem disponíveis anticorpos humanos. B, Uma vacina pode consistir em componentes purificados a partir do agente infeccioso ou pode ser desenvolvida por engenharia genética (partícula semelhante a vírus [VLP]). C, Vacinas selecionadas pela passagem a baixa ou alta temperatura em animais, ovos embrionados ou células de cultura de tecidos. D, Deleção, inserção, rearranjo e outros mutantes derivados de laboratório. E, Vacina composta de um vírus de uma espécie diferente, que possui um antígeno comum com o vírus humano.

Vacinas Inativadas

As vacinas inativadas utilizam uma grande quantidade de antígeno para produzir uma resposta protetora de anticorpos, mas sem o risco de induzir infecção pelo agente. Elas podem ser produzidas pela inativação das bactérias, toxinas bacterianas ou vírus por agentes químicos (p. ex., formalina), irradiação ou pelo calor, ou pela purificação ou síntese dos componentes ou subunidades dos agentes infecciosos. Esse tipo de vacina geralmente produz respostas por anticorpos (respostas Th2) em vez de respostas imunes mediadas por células.

Essas vacinas são usualmente administradas com um **adjuvante** que aumenta a sua imunogenicidade, estimulando a sua captação pelas células dendríticas, estimulando estas celulas (DC, do inglês, *dendritic cells*) ou estimulando macrófagos. O **alúmen** (hidróxido de alumínio ou fosfato de alumínio) é o adjuvante mais comum e aprovado. Muitas vacinas de proteínas são precipitadas sobre alúmen para formar partículas e promover a sua captação pelas DC e macrófagos. Outros adjuvantes podem estimular os receptores *Toll-like* ou ativar o inflamassoma nestas células apresentadoras de antígeno. O MF59 (esqualeno microfluidificado em uma emulsão de óleo e de água) e o monofosforil lipídeo A (MPL) são os adjuvantes utilizados em algumas vacinas mais recentes. Os adjuvantes em fase experimental incluem emulsões, partículas semelhantes a vírus, lipossomas (complexos de lipídeos definidos), componentes da parede celular bacteriana, gaiolas moleculares para o antígeno, surfatantes poliméricos e formas atenuadas da toxina da cólera e a linfotoxina *Escherichia coli*. Estas últimas moléculas são adjuvantes potentes para os anticorpos secretores (imunoglobulina [Ig] A) após a imunização intranasal ou oral.

As vacinas inativadas, ao invés das vacinas vivas, são usadas para conferir proteção contra as toxinas, a maioria das bactérias e vírus que não podem ser atenuados, que podem causar infecção recorrente ou ter um potencial oncogênico. Elas, em geral, são seguras, exceto em pessoas que têm reações alérgicas aos componentes da vacina. As desvantagens das vacinas inativadas estão listadas abaixo, sendo comparadas com as das vacinas vivas na Tabela 11-2.

1. A imunidade não é habitualmente contínua ao longo da vida.



Tabela 11-2

Vantagens e Desvantagens de Vacinas Vivas versus Inativadas

Propriedade	Viva	Inativada
Via de administração	Natural [*] ou injetável	Injetável
Dose de antígeno	Baixa	Elevada
Número de doses, quantidade	Única,† baixa	Múltiplas, elevada
Necessidade de adjuvantes	Não	Sim
Duração da imunidade	Longa duração	Curta duração
Resposta de anticorpos	IgG, IgA [‡]	IgM, IgG
Resposta imune mediada por células	Boa	Fraca
Labilidade potencial	Sim	Mais estável
Efeitos colaterais	Sintomas ocasionais leves	Ocasionalmente, braço dolorido
Reversão para estado virulento	Raro	Não

Adaptado de White DO, Fenner FJ: *Medical virology*, ed 3, New York, 1986, Academic. *Ig*, Imunoglobulina.

- 2. A imunidade pode ser apenas humoral (Th2) e não mediada por células.
- 3. A vacina não provoca uma resposta local de IgA.
- 4. São necessárias doses de reforço.
- 5. Devem ser usadas doses maiores.

Existem três tipos principais de vacinas bacterianas inativadas: o **toxoide** (toxinas inativadas), as bactérias **inativadas** (**mortas**) e os componentes de superfície de bactérias, tais como **cápsulas ou subunidades proteicas**. As vacinas bacterianas disponíveis atualmente estão listadas na Tabela 11-3. A maioria das vacinas antibacterianas protege contra a ação patogênica de toxinas.

^{*} Oral ou respiratória, em alguns casos.

[†] Pode ser necessário um único reforço (febre amarela, sarampo, rubéola) após um intervalo de 6 a 10 anos.

[‡] IgA se administrada por via oral ou respiratória.



Vacinas Bacterianas*†

Bactéria (Doença)	Componentes da Vacina	Quem Deve Receber as Vacinações
Corynebacterium diphtheriae (difteria)	Toxoide	Crianças e adultos
Clostridium tetani (tétano)	Toxoide	Crianças e adultos
Bordetella pertussis (coqueluche)	Acelular	Crianças e adolescentes
Haemophilus influenzae B (Hib)	Conjugado polissacarídeo capsular-proteína	Crianças
Neisseria meningitidis A, C, Y, W135 (doença meningocócica) N. meningitidis B (vacina proteica)	Conjugado polissacarídeo capsular-proteína, polissacarídeo capsular	Indivíduos de alto risco (p. ex., aqueles com asplenia), viajantes para áreas epidêmicas (p. ex., militares), crianças
Streptococcus pneumoniae (doença pneumocócica; meningite)	Polissacarídeo capsular; conjugado polissacarídeo capsular-proteína	Crianças, indivíduos de alto risco (p. ex., aqueles com asplenia), idosos
Vibrio cholerae (cólera)	Células mortas	Viajantes com risco de exposição
Salmonella typhi (tifo)	Células mortas; polissacarídeo	Viajantes com risco de exposição, contatos familiares, trabalhadores em águas residuais
Bacillus anthracis (antrax)	Células mortas	Pessoas que manuseiam pele importada, militares
Yersinia pestis (peste)	Células mortas	Veterinários, tratadores animais
Francisella tularensis (tularemia)	Viva atenuada	Tratadores animais em áreas endêmicas
Coxiella burnetii (febre Q)	Inativada	Tratadores de ovelhas, profissionais de laboratório que trabalham com <i>C. burnetii</i>
Mycobacterium tuberculosis (tuberculose)	Bacilos Calmette- Guérin <i>Mycobacterium</i> <i>bovis</i> vivos atenuados	Não recomendada nos Estados Unidos

^{*} Listada em ordem de frequência de uso.

As vacinas virais inativadas estão disponíveis para **poliomielite**, **hepatite A**, **influenza**, **raiva**, entre outros vírus. A vacina Salk contra a poliomielite (**vacina da poliomielite inativada [IPV]**) é preparada mediante inativação de vírions por formaldeído. A vacina contra a raiva é preparada pela inativação química de vírions produzidos em células de cultura de tecidos humanos diploides. Por causa do curso lento da raiva, a vacina pode ser administrada imediatamente após a exposição ao vírus e desencadear ainda uma resposta de anticorpos protetora.

Uma vacina de subunidade consiste em componentes bacterianos ou virais que induzem uma resposta imunitária protetora. As estruturas de superfície das bactérias e as proteínas de fixação virais (capsídeo ou glicoproteínas) induzem a produção de anticorpos protetores. Antígenos de células T podem também ser incluídos em uma vacina de subunidade. O componente imunogênico pode ser isolado a partir de bactérias, vírus ou células infectadas por vírus, por meios bioquímicos, ou a preparação da vacina pode ser realizada por engenharia genética mediante expressão de genes virais clonados em bactérias ou células eucarióticas. Por exemplo, a vacina de subunidade de VHB foi inicialmente preparada a partir do antígeno de superfície obtido de soro humano em portadores crônicos do vírus. Atualmente, a vacina é obtida a partir da levedura contendo o gene do HBsAg. O antígeno é purificado, tratado quimicamente e absorvido em alúmen, sendo utilizado como vacina. As proteínas de subunidade utilizadas nas vacinas do VHB e do vírus do papiloma humano (HPV) formam partículas semelhantes ao vírus (VLP, do inglês, virus like particles), que são mais imunogênicas do que as proteínas individuais.

A maior parte das vacinas inativadas anuais contra o vírus *influenza* consistem em uma mistura das proteínas hemaglutinina e neuraminidase, obtidas a partir de ovos embrionados ou células de cultura de tecidos infectados com diferentes estirpes de *influenza* A e B ou, a partir de proteínas geneticamente modificadas. A mistura da vacina é formulada anualmente de modo a desencadear proteção contra as estirpes de vírus que constituam uma provável ameaça à população no ano seguinte.

As vacinas contra *H. influenzae B, Neisseria meningitidis, Salmonella typhi*, e *Streptococcus pneumoniae* (23 estirpes) são preparadas a partir de polissacáridos capsulares. Infelizmente, os polissacarídeos são geralmente agentes imunogênicos fracos (antígenos T-independentes). A vacina meningocócica contém os polissacarídeos de quatro sorotipos principais (A, C, Y e W-135). A vacina pneumocócica contém polissacáridos de 23 sorotipos. A imunogenicidade de um polissacarídeo pode ser incrementada, tornando-o um antígeno dependente de T por meio da ligação química a um transportador de proteína (vacina conjugada) (p. ex., toxoide da difteria ou proteína da membrana externa de *N. meningitidis*) (Fig. 11-2). O

[†] Pode ser encontrada uma lista mais completa em www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucm093833.htm.

complexo toxoide diftérico-polissacarídeo do *H. influenzae* B (Hib) está aprovado para a administração em lactentes e crianças. Foi desenvolvida uma vacina conjugada "pneumocócica" de *S. pneumonia*, na qual o polissacarídeo proveniente das 13 estirpes mais prevalentes nos Estados Unidos se encontra ligado a uma forma não tóxica do toxoide da difteria. Essa vacina está disponível para uso em lactentes e crianças jovens. As outras vacinas de polissacarídeos são menos imunogênicas e administradas a indivíduos com idade superior a 2 anos.

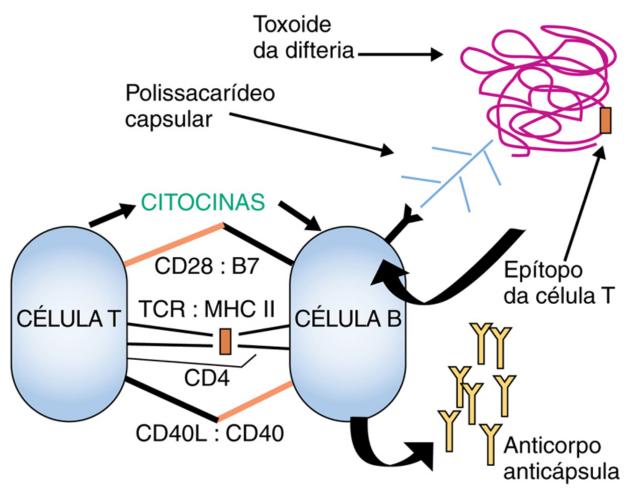


FIGURA 11-2 Vacinas conjugadas de polissacarídeo capsular. Os polissacarídeos capsulares são agentes imunogênicos fracos, não desencadeiam a resposta de células T e apenas induzem a formação de imunoglobulinas (Ig) M sem memória. O polissacarídeo capsular conjugado com uma proteína (p. ex., toxoide da difteria) liga-se à IgM antipolissacarídeo de superfície na célula B, o complexo é internalizado e processado e, depois, um peptídeo é apresentado no complexo principal de histocompatibilidade II (*MHC II*) às células T CD4. As células T tornam-se ativadas, produzem citocinas e promovem a mudança de classe da imunoglobulina para a célula B polissacarídeo-específica. A célula B pode tornar-se ativada e produzir IgG e as células de memória se desenvolverão. *TCR*, receptor da célula T.

Vacinas Vivas

As vacinas vivas são preparadas com micróbios limitados na sua capacidade em causar doença (p. ex., micróbios avirulentos ou atenuados). As vacinas vivas são particularmente úteis na proteção contra infecções causadas por vírus com envelope, que requerem respostas imunitárias de células T para a resolução da infecção. A imunização com uma vacina viva assemelha-se a uma infecção natural porque a resposta imune progride pelas respostas inatas naturais e respostas imunes antígeno-específicas, de tal modo que respostas imunes humorais, celulares e de memoria são desenvolvidas.

A imunidade é geralmente de longa duração e, dependendo da via de administração, pode mimetizar a resposta imune normal para o agente infeccioso. No entanto, a lista que se segue inclui três problemas com vacinas vivas:

- 1. O vírus da vacina pode ser perigoso para indivíduos imunodeprimidos ou mulheres grávidas que não têm os recursos imunológicos para resolver uma infecção desencadeada até mesmo por um vírus enfraquecido.
- 2. A vacina pode reverter para uma forma viral virulenta.
- 3. A viabilidade da vacina deve ser mantida.

As vacinas bacterianas vivas incluem a vacina viva para a febre tifoide com a estirpe *S. typhi* (Ty2la) atenuada e administrada por via oral; o bacilo de Calmette-Guérin (BCG), a vacina para a tuberculose, a qual consiste em uma estirpe atenuada de *Mycobacterium bovis*; e uma vacina atenuada para a tularemia. Uma combinação de respostas imunes, mediadas por anticorpos e mediadas por células, induzida por uma vacina viva pode ser necessária contra bactérias que crescem a nível intracelular. A vacina BCG não é utilizada nos Estados Unidos em virtude de essa imunização não assegurar sempre

proteção e porque indivíduos vacinados apresentam reação cutânea falso-positiva para o teste do derivado de proteína purificada (PPD), que é o teste de rastreio utilizado nos Estados Unidos para controlar a tuberculose.

As vacinas de vírus vivos consistem em mutantes menos virulentos (atenuados) do vírus de tipo selvagem, vírus de outras espécies que partilham determinantes antigênicos (vacina para a varíola, rotavírus bovino) ou vírus geneticamente modificados sem propriedades de virulência (Fig. 11-1). Os vírus do tipo selvagem são atenuados por crescimento em ovos embrionados ou células de cultura de tecidos a temperaturas não fisiológicas (25°C a 34°C) e longe das pressões seletivas da resposta imune do hospedeiro. Essas condições selecionam e/ou permitem o crescimento de estirpes virais (mutantes) que (1) são menos virulentos porque crescem mal a 37°C (estirpes sensíveis à temperatura [p. ex., vacina contra o sarampo] e estirpes adaptadas ao frio [vacina contra a gripe]), (2) não se replicam bem em qualquer célula humana (mutantes de espectro do hospedeiro), (3) não podem escapar do controle imunológico ou (4) podem replicar-se em um local benigno, mas não se conseguem disseminar, ligar ou replicar no tecido alvo caracteristicamente afetado pela doença (p. ex., a vacina contra a poliomielite replica-se no trato gastrointestinal, mas não atinge ou infecta as células neuronais). A Tabela 11-4 lista exemplos de vacinas de vírus vivos atenuados, em uso atualmente.



Tabela 11-4

Vacinas Víricas*†

Vírus	Componentes de Vacinas	Quem Deve Receber as Vacinações
Pólio, inativada	Trivalente (vacina Salk)	Crianças
Pólio atenuada	Vivos (vacina da pólio oral, vacina Sabin)	Crianças em áreas epidêmicas
Sarampo	Atenuados	Crianças
Cachumba	Atenuados	Crianças
Rubéola	Atenuados	Crianças
Varicela-zóster	Atenuados Dose superior	Crianças Adultos (> 60) anos
Rotavírus	Híbridos humano-bovino	Bebês
	Atenuados	
Papilomavírus humano	VLP	Idades (meninas e meninos) entre 9 e 26 anos
Influenza	Inativados	Crianças, adultos, sobretudo trabalhadores nas áreas da saúde, e idosos
	Atenuados (spray nasal)	Idades entre 2 e 50 anos
Hepatite B	Subunidade (VLP)	Recém-nascidos, profissionais de saúde, grupos de alto risco (p. ex., sexualmente promíscuos, utilizadores de drogas intravenosas ilícitas)
Hepatite A	Inativados	Crianças, profissionais cuidadores de crianças, viajantes para áreas endêmicas, americanos nativos e habitantes do Alasca
Adenovírus	Atenuados	Militares
Febre amarela	Atenuados	Viajantes com risco de exposição, militares
Raiva	Inativados	Qualquer indivíduo exposto ao vírus Pré-exposição: veterinários, cuidadores de animais
Varíola	Vírus da vaccinia vivo	Proteção contra o bioterrorismo, militares
Encefalite japonesa	Inativados	Viajantes com risco de exposição

VLP, Partícula semelhante ao vírus.

A primeira vacina — a da varíola — foi desenvolvida por Edward Jenner. A ideia para a vacina surgiu quando observou que a varíola bovina (*vaccinia*), um vírus virulento de outra espécie que compartilha determinantes antigênicos com a varíola, causava infecções benignas em humanos, mas conferia imunidade protetora contra a varíola. Do mesmo modo, uma mistura recombinante genética de rotavírus humanos e bovinos é a base de uma das vacinas atuais administradas para proteger crianças contra os rotavírus humanos.

Albert Sabin desenvolveu a primeira **vacina oral contra polio (OPV)** viva na década de 1950. A vacina de vírus atenuado foi obtida por múltiplas passagens dos três tipos de poliovírus através de células de cultura de tecidos de rim de macaco. Pelo menos 57 mutações acumularam-se na estirpe de vacina da poliomielite de tipo 1. Quando a vacina é administrada por via oral, a IgA é secretada no intestino e a IgG no soro, proporcionando proteção ao longo da via normal de infecção pelo vírus de tipo selvagem. Essa vacina é barata, fácil de administrar, relativamente estável e pode estender-se aos contatos do

^{*} Listadas em ordem de frequência de uso.

[†] Pode ser encontrada uma lista completa em www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/ucm093833.htm.

indivíduo imunizado. Os programas de vacinação eficazes conduziram à eliminação da poliomielite de tipo selvagem na maior parte do mundo. A IPV é a vacina mais utilizada na maioria dos países para a imunização de rotina dos bebês sadios pelo risco de doença de pólio induzida pelo vírus da vacina OPV (Fig. 11-2). Embora a resposta imunitária desencadeada pela vacina IPV possa prevenir a disseminação do vírus aos sistemas nervoso central e muscular, para proteger o indivíduo de doenças, não impede a produção do vírus no trato gastrointestinal e, a sua transmissão a outros indivíduos pelas fezes tal como faz a vacina OPV.

As vacinas de VHB e de HPV são geneticamente manipuladas e cultivadas em células de levedura. As proteínas de ligação viral de VHB (HBsAg) e HPV (proteína L) formam partículas semelhantes ao vírus, que são melhores agentes imunogênicos do que as proteínas individuais. Ao limitar a propagação desses vírus, essas vacinas também impedem cânceres associados (carcinoma do colo do útero: HPV; carcinoma hepatocelular primário: VHB).

Foram desenvolvidas vacinas vivas para sarampo, cachumba e rubéola (administradas em conjunto e denominadas vacina MMR), varicela-zóster e, mais recentemente, para o vírus *influenza*. A proteção contra essas infecções requer uma resposta imune celular potente. Para induzir uma resposta de células T maduras, a vacina deve ser administrada em crianças com idade superior a 1 ano, quando já não há interferência de anticorpos maternos e a imunidade mediada por células se encontra suficientemente madura. A vacina morta contra o sarampo provou ser um fracasso por assegurar apenas imunidade incompleta, que induzia sintomas mais graves (sarampo atípico) do que os associados à infecção natural, quando em contato com o vírus do sarampo de tipo selvagem.

A primeira vacina viva contra o sarampo consistia na estirpe Edmonston B, que foi desenvolvida por Enders e seus colegas. Esse vírus foi sujeito a uma passagem extensiva a 35 °C através de células renais primárias humanas, células de âmnio humano e células de embrião de galinha. As estirpes de vacinas Moraten (Estados Unidos) e Schwarz (outros países) atualmente usadas para o sarampo foram obtidas através de passagens adicionais das cepas Edmonston B em embriões de galinha a 32 °C.

As vacinas contra os vírus da cachumba (estirpe Jeryl Lynn) e da rubéola (Wistar RA 27/3) também foram atenuadas por uma extensa passagem do vírus em cultura de células. A vacina da varicela-zóster utiliza a estirpe Oka, um vírus atenuado. A vacina da varicela-zóster é administrada juntamente com a vacina MMR, ou uma versão mais forte é administrada a adultos para prevenir herpes-zóster (zona).

As vacinas vivas de vírus *influenza* tri e tetravalentes são administradas por via nasal, inaladas por aerossol e adaptadas ao frio para 25°C. Ao contrário da vacina inativada, esse tipo induz respostas das células T e células B, bem como a imunidade das mucosas. Essa vacina só pode ser administrada a indivíduos com idades compreendidas entre 2 e 49 anos.

Diretrizes Futuras para a Vacinação

As técnicas de biologia molecular estão sendo utilizadas para desenvolver novas vacinas. Novas vacinas vivas podem ser criadas mediante mutações por engenharia genética que inativam ou eliminam um gene de virulência, em detrimento da atenuação aleatória do vírus por passagem através de cultura de tecidos. Os genes de agentes infecciosos que não podem ser atenuados de forma adequada podem ser inseridos em vírus seguros (p. ex., vírus da *vaccinia, canarypox*, adenovírus atenuado) para formar **vacinas de vírus híbridos**. Essa abordagem mantém a promessa de permitir o desenvolvimento de uma vacina polivalente para muitos agentes em um vetor único, seguro, barato e relativamente estável. Perante a infecção, a vacina de vírus híbrido não precisa completar um ciclo de replicação, mas simplesmente promover a expressão do gene inserido para iniciar uma resposta imunitária aos antígenos. Os sistemas de vetores de *vaccinia, canarypox* e adenovírus têm sido utilizados em várias vacinas híbridas experimentais. Uma vacina *canarypox* contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV), seguida de duas imunizações de reforço com a glicoproteína recombinante 120 do HIV mostrou resultados modestos mas promissores. Uma vacina baseada na *vaccinia* é utilizada para imunizar animais selvagens contra a raiva. Outros vírus têm sido também considerados vetores.

As vacinas de subunidades modificadas por engenharia genética estão sendo desenvolvidas mediante clonagem de genes que codificam proteínas imunogênicas em vetores bacterianos e eucarióticos. As maiores dificuldades no desenvolvimento de tais vacinas são: (1) a identificação da subunidade apropriada ou do agente imunogênico peptídico que pode induzir anticorpos protetores e, idealmente, respostas de células T; e (2) a apresentação do antígeno na conformação correta. Uma vez identificado, o gene pode ser isolado, clonado e expresso em bactérias ou células de levedura e, em seguida, podem ser produzidas grandes quantidades dessas proteínas. A proteína gp120 do envelope do HIV, a hemaglutinina e a neuraminidase do vírus *influenza*, o antígeno G da raiva e a glicoproteína D do vírus do herpes simplex foram clonados, e as suas proteínas foram geradas em bactérias ou células eucarióticas para utilização (ou utilização potencial) como vacinas de subunidade.

As vacinas de subunidades peptídicas contêm epítopos específicos de proteínas microbianas que induzem anticorpos neutralizantes ou respostas adequadas de células T. Para gerar tal resposta, o peptídeo deve conter sequências que se ligam a proteínas MHC I ou MHC II (complexo de histocompatibilidade principal de classe I ou II) nas DC para serem apresentadas e reconhecidas por células T, para iniciar uma resposta imune. A imunogenicidade do peptídeo pode ser aumentada pela sua ligação covalente a uma proteína transportadora (p. ex., toxoide do tétano ou da difteria ou hemocianina do molusco keyhole limpet [KLH]), um ligando para um receptor de tipo Toll (p. ex., a flagelina) ou um peptídeo imunológico, que pode apresentar especificamente o epítopo para a resposta imune adequada. Estão sendo desenvolvidas vacinas melhores, já que os mecanismos de apresentação de antígenos e antígenos específicos do receptor de células T são mais bem compreendidos.

Os **adjuvantes**, para além do alúmen, estão sendo desenvolvidos para melhorar a imunogenicidade e direcionar a resposta de vacinas para uma resposta Th1 ou tipo Th2. Estes incluem ativadores dos receptores do *tipo Toll*, tais como oligodesoxinucleótidos de CpG, derivados de lípido A de lipopolissacarídeos, citocinas, lipossomas, nanopartículas e outros. O uso de MF59 em uma nova vacina contra o vírus *influenza* (não disponível nos Estados Unidos) permite a redução na quantidade de antígeno necessário para desencadear uma imunidade protetora.

As vacinas de DNA oferecem um grande potencial para a imunização contra agentes infecciosos e para a imunoterapia de tumores que requerem respostas de células T. No que diz respeito a essas vacinas, o gene para uma proteína que induz respostas protetoras é clonado em um plasmídeo, que permite que a proteína seja expressa em células eucarióticas. A molécula pura de DNA é injetada no músculo ou na pele do receptor da vacina, onde o DNA é captado pelas células, o gene é expresso e a proteína é produzida, sendo apresentada às células T e ativando estas últimas. As vacinas de DNA geralmente requerem um estímulo com a proteína antigênica para produzir anticorpos.

Uma nova abordagem, denominada *vacinologia reversa*, foi usada para desenvolver uma vacina contra a *N. meningitidis* B. Com base em propriedades proteicas previstas a partir da sequência gênica para identificar candidatos proteicos, milhares de proteínas foram testadas quanto à sua capacidade para conferir proteção contra a infecção. Com a invenção dessa e de outras novas tecnologias, deverá ser possível desenvolver vacinas contra agentes infecciosos, tais como *Streptococcus mutans* (para prevenir a cárie dentária), os vírus do herpes, HIV e parasitas, tais como *Plasmodium falciparum* (malária) e *Leishmania*. Na verdade, deverá ser possível produzir uma vacina para qualquer agente infeccioso, uma vez que um agente imunogênico protetor adequado seja identificado e o seu gene, isolado.

Programas de Imunização

Um programa de vacinação eficaz pode economizar milhões de dólares em custos de saúde. Tal programa não apenas protege cada pessoa vacinada contra a infecção e a doença, mas também reduz o número de pessoas suscetíveis, impedindo assim a propagação do agente infeccioso dentro da população. Embora a imunização possa ser a melhor forma de proteger os indivíduos contra a infecção, não podem ser desenvolvidas vacinas para todos os agentes infecciosos. Uma das razões é que o desenvolvimento de vacinas é um processo muito moroso e dispendioso. O Quadro 11-1 lista as considerações a ter em conta na escolha de um candidato para um programa de vacinação.



Quadro 11-1 Propriedades do Candidato Ideal para o Desenvolvimento de

Vacinas

O micróbio causa doença significativa

O micróbio existe apenas como um sorotipo

O anticorpo bloqueia a infecção ou a disseminação sistêmica

A vacina é termoestável podendo ser transportada para áreas endêmicas

A imunização protege o hospedeiro e a população

A doença da varíola natural foi eliminada por meio de um programa de vacinação eficaz, porque era uma boa candidata para esse programa; o vírus existia em apenas um sorotipo, os sintomas estavam sempre presentes em pessoas infectadas e a vacina era relativamente benigna e estável. No entanto, a sua eliminação surgiu apenas como o resultado de um esforço de cooperação concertada por parte da OMS e de agências de saúde em todo o mundo. O rinovírus é um exemplo de um mau candidato para o desenvolvimento de uma vacina, porque a doença vírica não é grave e existem muitos sorotipos para a vacinação ser eficaz. Os aspectos práticos do desenvolvimento de vacinas e seus problemas estão listados no Quadro 11-2.



Quadro 11-2 Problemas com o Uso de Vacinas

As vacinas vivas podem, ocasionalmente, reverter para formas virulentas.

Vacinar um indivíduo imunocomprometido com uma vacina viva pode ser fatal.

Podem ocorrer efeitos colaterais à vacinação; esses incluem hipersensibilidade e reações alérgicas ao antígeno, ao material não microbiano da vacina e a contaminantes (p. ex., ovos).

O desenvolvimento de vacinas é um procedimento de alto risco e muito dispendioso.

A veiculação de informação errada sobre a segurança da vacinação provoca a subutilização de vacinas importantes.

Os micróbios com muitos sorotipos são difíceis de controlar com a vacinação.

Do ponto de vista do indivíduo, a vacina ideal deveria induzir imunidade vitalícia fiável para a infecção, sem efeitos colaterais graves. Os fatores que influenciam o sucesso de um programa de imunização incluem não apenas a composição da vacina, mas também o momento, o local e as condições da sua administração. A veiculação de informação errada sobre questões de segurança com vacinas tem dissuadido alguns indivíduos ou os seus filhos de serem vacinados, colocando-os em risco de contrair a doença.

Os planos de vacinação recomendados para as crianças são mostrados na Figura 11-3. As tabelas de vacinação recomendadas para crianças, adolescentes, adultos e casos especiais são fornecidas anualmente pelo Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) do Centers for Disease Control and Prevention. As **imunizações de reforço** de vacinas inativadas e da vacina viva contra o sarampo são necessárias mais tardiamente na vida. Homens e mulheres com idade inferior a 26 anos devem receber a vacina contra o HPV e os estudantes universitários devem receber a vacina meningocócica ou um reforço. Os adultos devem ser imunizados com vacinas para o *S. pneumoniae* (pneumococo), *influenza*, raiva, varicela-zóster, VHB e outras doenças, dependendo da sua idade, do emprego, dos tipos de viagens que fazem e de outros fatores de risco que podem torná-los particularmente suscetíveis a agentes infecciosos específicos. Uma discussão mais detalhada de cada uma das vacinas será apresentada posteriormente em outros capítulos, juntamente com a patologia para a qual fornecem proteção.

Vacina ▼ Idade ▶	Nasci- mento	1 meses	2 meses	4 meses	6 meses	12 meses	15 meses	18 meses	19-23 meses	2-3 anos	4-6 anos	12-26 anos
Hepatite B	HepB	He	рВ			He	ерВ					
Rotavírus			Rota	Rota	Rota							
Difteria, tétano e tosse convulsa			DTaP	DTaP	DTaP		DT	TaP			DTaP	Tdap
Haemophylus influenzae tipo B			Hib	Hib	Hib	Н	lib					
Pneumocócica conjugada			PCV	PCV	PCV	PCV PPV			PV			
Poliovírus inativada			IPV	IPV		IPV IPV				IPV		
Influenza							Infl	uenza (ar	nualmente	9)		
Sarampo, cachumba e rubéola						MI	MR				MMR	
Varicela						Vari	cela				Varicela	
Hepatite A					HepA (2 doses) HepA series de vacinação contra a HepA							
Meningocócica					MCV4							
Papilomavírus humano												HPV

Intervalo de idade recomendado

Determinados grupos de alto risco

FIGURA 11-3 Esquema de vacinação infantil recomendado pelo Centers for Disease Control and Prevention. As vacinas estão listadas nas idades recomendadas por rotina para a sua administração. As barras indicam o intervalo de idades aceitáveis para a vacinação. DTaP, difteria, tétano e pertussis acelular; HepA, hepatite A; HepB, hepatite B; Hib, Haemophilus influenzae tipo B; IPV, poliovírus inativado; MCV4, meningocócica conjugada quadrivalente; MMR, sarampo, cachumba, rubéola; PCV, pneumocócica conjugada; PPV, polissacarídeo pneumocócica; Rota, rotavírus. (De Centers for Disease Control and Prevention Advisory Committee on Immunization Practices: Recommended immunization schedule for persons aged 0 through 6 years — United

States, 2015 (PDF). www.cdc.gov/vaccines/recs/schedules/downloads/child/0-6yrs-schedule-pr.pdf. Accessed March 10, 2015.)

Referências Bibliográficas

Centers for Disease Control and Prevention, Atkinson W, Wolfe S, Hamborsky J, editors: Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases (the pink book), ed 12, Washington, DC, 2011, Public Health Foundation.

Plotkin SA, Orenstein WA. Vaccines. ed 5 Philadelphia: WB Saunders; 2005.

Rosenthal KS. Vaccines make good immune theater: immunization as described in a three-act play. *Infect Dis Clin Pract*. 2006;14:35–45. Rosenthal KS, Zimmerman DH. Vaccines: all things considered. *Clin Vaccine Immunol*. 2006;13:821–829.

Websites

Advisory Committee on Immunization Practices: Statements. www.cdc.gov/vaccines/recs/acip/default.htm. Acessado em 5 de agosto de 2015.

American Academy of Pediatrics: Status of recently submitted, licensed, and recommended vaccines & biologics. http://redbook.solutions.aap.org/vaccine-status.aspx?gbosid=167073. Acessado em 6 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases, ed 4, 2008-2009; ed 5, 2011. www.cdc.gov/vaccines/pubs/surv-manual/index.html. Acessado em 5 de agosto de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Vaccines & immunizations. www.cdc.gov/vaccines/default.htm. Acessado em 5 de agosto de 2015.

Immunization Action Coalition: Vaccination information statements. www.immunize.org/vis. Acessado em 5 de agosto de 2015.

Immunization Action Coalition: Vaccine information for the public and health professionals: vaccine-preventable disease photos. www.vaccineinformation.org/photos/index.asp. Acessado em 5 de agosto de 2015.

National Foundation for Infectious Diseases: Fact sheets. www.nfid.org/publications/factsheets. Acessado em 5 de agosto de 2015.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases: Vaccines. www.niaid.nih.gov/topics/vaccines/Pages/Default.aspx. Acessado em 5 de agosto de 2015.

World Health Organization: Immunization service delivery. www.who.int/vaccines-diseases/index.html. Acessado em 5 de agosto de 2015

SEÇÃO 4

Bacteriologia

Capítulo 12: Classificação, Estrutura e Replicação Bacterianas
Capítulo 13: Metabolismo Bacteriano e Genética
Capítulo 14: Mecanismos de Patogenicidade Bacteriana
Capítulo 15: O Papel das Bactérias nas Doenças
Capítulo 16: Diagnóstico Laboratorial das Doenças Bacterianas
Capítulo 17: Agentes Antibacterianos
Capítulo 18: Staphylococcus e Outros Cocos Gram-positivos Relacionados
Capítulo 19: Streptococcus e Enterococcus
Capítulo 20: Bacillus
Capítulo 21: Listeria e Bactérias Gram-positivas Relacionadas
Capítulo 22: Mycobacterium e Bactérias Acidorresistentes Relacionadas
Capítulo 23: Neisseria e Gêneros Relacionados
Capítulo 24: Haemophilus e Bactérias Relacionadas
Capítulo 25: Enterobacteriaceae
Capítulo 26: Vibrio e Aeromonas
Capítulo 27: Pseudomonas e Bactérias Relacionadas
Capítulo 28: Campylobacter e Helicobacter
Capítulo 29: Bacilos Gram-Negativos Diversos
Capítulo 30: Clostridium
Capítulo 31: Bactérias Anaeróbias não Formadoras de Esporos
Capítulo 32: Treponema, Borrelia e Leptospira
Capítulo 33: Mycoplasma e Ureaplasma
Capítulo 34: Rickettsia, Ehrlichia e Bactérias Relacionadas
Capítulo 35: Chlamydia e Chlamydophila

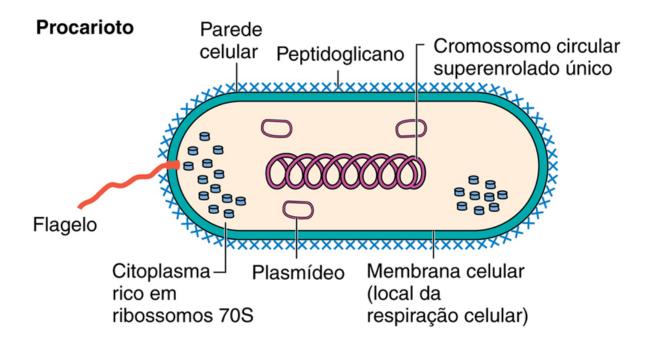
CAPÍTULO 12

Classificação, Estrutura e Replicação Bacterianas

As menores bactérias (*Chlamydia* e *Rickettsia*) têm apenas de 0,1 a 0,2 µm de diâmetro, enquanto as maiores podem ter muitos micrômetros de comprimento. Uma espécie recém-descrita é centenas de vezes maior que a média das células bacterianas e é visível a olho nu. A maioria das espécies, contudo, tem aproximadamente 1 µm de diâmetro, e, portanto, é visível com microscópio óptico, que tem uma resolução de 0,2 µm. Em comparação, as células animais e de plantas são muito maiores, variando de 7 µm (o diâmetro de uma hemácia) a vários centímetros (o comprimento de determinadas células nervosas).

Diferenças entre Eucariotas e Procariotas

Células de animais, plantas e fungos são eucariotas (do grego "núcleo verdadeiro"), enquanto bactérias, arquebactérias (archae) e algas azuis-esverdeadas são procariotas (do grego "núcleo primitivo"). As arquebactérias assemelham-se às bactérias em muitos aspectos, mas representam um domínio exclusivo de bactérias e eucariotas. Além da falta de um núcleo e outras organelas, o cromossomo bacteriano difere do cromossomo humano em vários aspectos. O cromossomo de uma bactéria típica, como Escherichia coli, é uma molécula circular única, de dupla-fita, de ácido desoxirribonucleico (DNA), que contém cerca de cinco milhões de pares de bases, um comprimento aproximado de 1,3 mm (i.e., cerca de 1.000 vezes o diâmetro da célula). Os menores cromossomos bacterianos (dos micoplasmas) têm aproximadamente um quarto desse tamanho. Em comparação, os seres humanos têm duas cópias de 23 cromossomos, que representam 2,9 × 10⁹ pares de bases, com 990 mm de comprimento. As bactérias utilizam um ribossomo menor, o ribossomo 70S, e na maioria das bactérias, uma estrutura tipo emaranhado, a parede celular de peptidoglicano, que envolve as membranas para protegê-las do meio ambiente. As bactérias podem sobreviver e, em alguns casos, crescer em ambientes hostis em que a pressão osmótica no exterior da célula é tão baixa que levaria à lise da maioria das células eucariotas, em temperatura extremas (tanto quentes quanto frias), em ambiente áridos, e com fontes de energia muito escassas e diversas. As bactérias evoluíram suas estruturas e funções para se adaptar a essas condições. Essas e outras características distintas estão representadas na Figura 12-1 e delineadas na Tabela 12-1. Várias dessas características determinam as bases para a ação antimicrobiana.



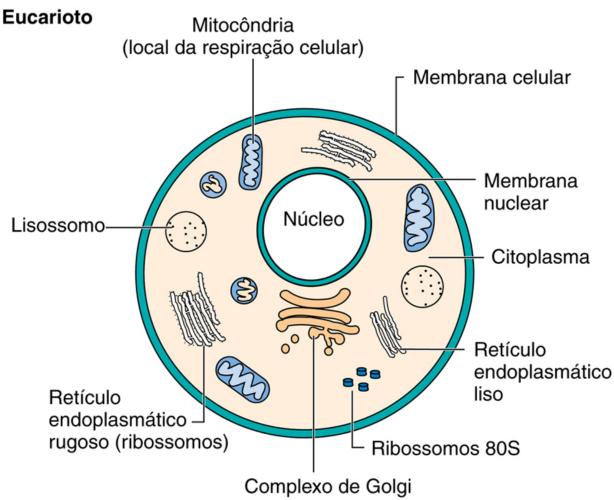


FIGURA 12-1 Principais características dos procariotas e eucariotas.



Principais Características de Eucariotas e Procariotas

Característica	Eucariota	Procariota				
Principais grupos	Algas, fungos, protozoários, plantas, animais	Bactérias				
Tamanho (aproximado)	> 5 µm	0,5-3,0 μm				
Estruturas Nucleares						
Núcleo	Membrana clássica	Sem membrana nuclear				
Cromossomos	Fitas de DNA de genoma diploide	Genoma único e circular de DNA haploide				
Estruturas Citoplasmática	as					
Mitocôndria	Presente	Ausente				
Complexo de Golgi	Presente	Ausente				
Retículo endoplasmático	Presente	Ausente				
Ribossomos (coeficiente de sedimentação)	80S (60S + 40S)	70S (50S + 30S)				
Membrana citoplasmática	Contém esteroides	Não contém esteroides (exceto micoplasma)				
Parede celular	Presente nos fungos; do contrário ausente	É uma estrutura complexa contendo proteína, lipídios e peptidoglicanos				
Reprodução	Sexuada e assexuada	Assexuada (fissão binária)				
Movimento	Flagelos complexos, se presentes	Flagelos simples, se presentes				
Respiração	Via mitocôndria	Via membrana citoplasmática				

Modificada de Holt S. In Slots J, Taubman M, editors: Contemporary oral microbiology and immunology, St Louis, 1992, Mosby.

Classificação Bacteriana

As bactérias podem ser classificadas pelos seus aspectos macro e microscópico, pelas características de crescimento e propriedades metabólicas, pela sua antigenicidade e, finalmente, pelo seu genótipo.

Distinção Macroscópica e Microscópica

A distinção inicial entre as bactérias pode ser feita pelas características de crescimento em diferentes meios nutrientes e seletivos. As bactérias crescem em colônias; cada colônia é como uma cidade de até um milhão ou mais de organismos. O somatório das características individuais dos organismos determina as características coloniais, tais como cor, tamanho, forma e cheiro. A capacidade das bactérias de resistir a certos antibióticos, fermentar açúcares específicos (p.ex., lactose, para distinguir a *Escherichia coli* de *Salmonella*), lisar os eritrócitos (propriedades hemolíticas estreptocócicas), ou hidrolisar lipídios (p.ex., a lipase clostridial) também pode ser determinada utilizando-se o meio adequado para o crescimento.

A aparência microscópica, incluindo o tamanho, a forma e a morfologia dos organismos (cocos, bacilos, curvos ou em espiral), e a sua capacidade de reter a coloração de Gram (Gram-positivas ou Gram-negativas) são as características primárias para diferenciar as bactérias. Uma bactéria esférica, como *Staphylococcus*, é um coco; uma bactéria em forma de bastonete, como *E. coli*, é um bacilo; e o treponema, semelhante a uma cobra, é um espirilo. Além disso, as espécies de *Nocardia* e *Actinomyces* têm ramificações filamentosas semelhantes às dos fungos. Algumas bactérias formam agregados, tais como os aglomerados em forma de cacho de uva de *Staphylococcus aureus* ou os diplococos (duas células juntas), que são observados nas espécies de *Streptococcus* ou *Neisseria*.

A coloração de Gram é um teste rápido, eficaz e fácil que permite aos clínicos diferenciar as duas principais classes de bactérias, desenvolver um diagnóstico inicial e começar a terapêutica com base nas diferenças inerentes às bactérias (Fig. 12-2). As bactérias são fixadas a quente ou deixadas secar sobre uma lâmina, coradas com cristal violeta (Fig. 12-3),um corante que é precipitado com iodo (lugol), e, em seguida, o corante não ligado ou em excesso é removido por lavagem com descorante à base de acetona e água. Um contracorante vermelho, a safranina, é adicionado para corar as células descoradas. Esse processo leva menos de 10 minutos.

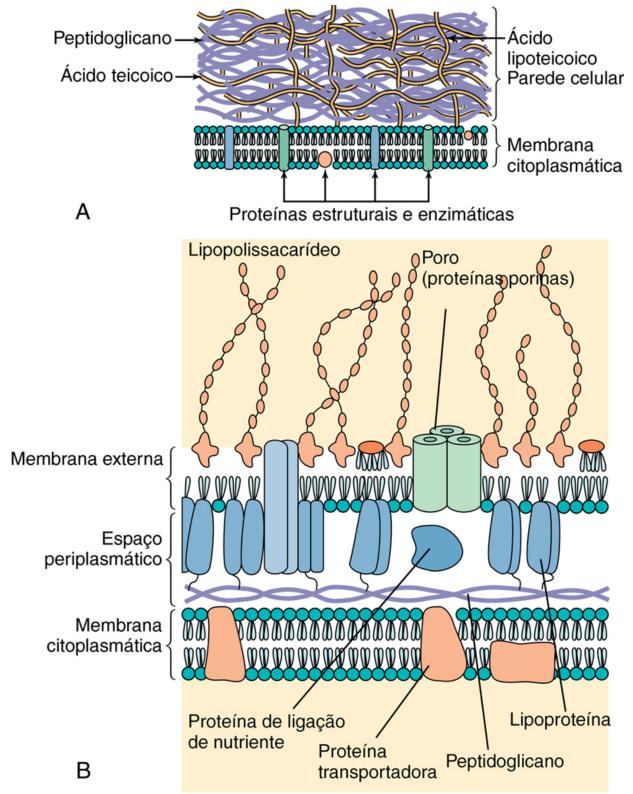


FIGURA 12-2 Comparação das paredes celulares de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A, Uma bactéria Gram-positiva tem uma camada espessa de peptidoglicano que contém os ácidos teicoico e lipoteicoico. B, Uma bactéria Gram-negativa possui uma camada fina de peptidoglicano e uma membrana externa que contém lipopolissacarídeos, fosfolipídios e proteínas. O espaço periplasmático entre as membranas citoplasmática e externa contém proteínas de transporte, de degradação e de síntese da parede celular. A membrana externa é ligada à membrana citoplasmática em pontos de adesão e está fixada ao peptidoglicano por ligações de lipoproteínas.

Gram-positivo Staphylococcus aureus Passo 1 Cristal violeta Passo 2 Iodo de Gram Passo 3 Descolorante (álcool ou acetona) Passo 4 Safranina vermelha A

Formas morfológicas bacterianas

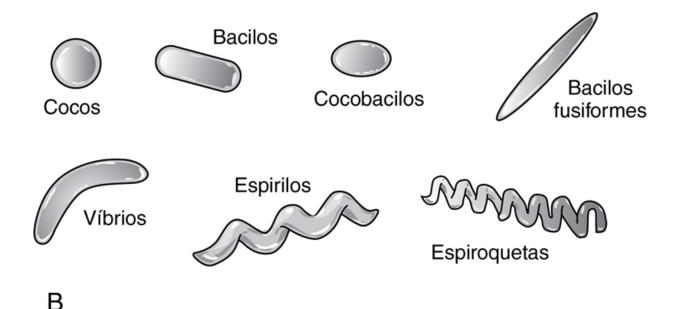


FIGURA 12-3 Morfologia da coloração de Gram bacteriana. A, O cristal violeta da coloração de Gram é precipitado por iodo e permanece preso na camada espessa de peptidoglicano em bactérias Gram-positivas. O descolorante dispersa a membrana externa Gram-negativa e remove o cristal violeta da fina camada de peptidoglicano. As bactérias Gram-negativas são visualizadas pelo contracorante vermelho. B, Morfologias bacterianas.

Para as **bactérias Gram-positivas**, que se tornam **roxas**, o corante fica preso em uma estrutura grossa e emaranhada, acamada de peptidoglicano, que circunda a célula. As **bactérias Gram-negativas** possuem uma fina camada de peptidoglicano que não retém o corante cristal violeta, e então as células são coradas com safranina e tornam-se **vermelhas** (Fig. 12-4). Uma estratégia mnemônica que pode ajudar é o "**P-PÚRPURA-POSITIVO**".

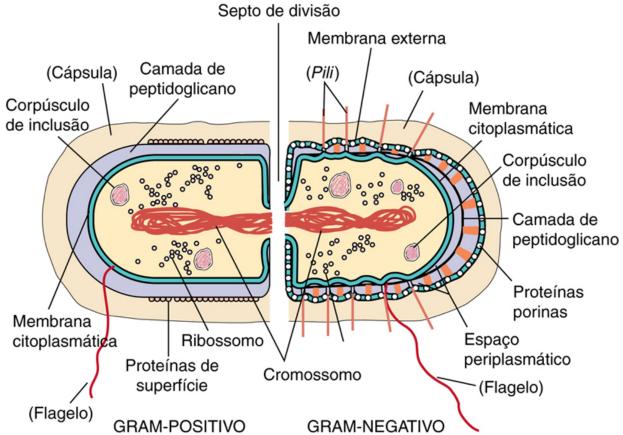


FIGURA 12-4 Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A bactéria Gram-positiva tem uma camada espessa de peptidoglicano (preenchendo o espaço de cor púrpura) (à esquerda). A bactéria Gram-negativa apresenta uma camada fina de peptidoglicano (linha preta individual) e uma membrana externa (à direita). As estruturas entre parênteses não são encontradas em todas as bactérias. Após a divisão celular, a membrana e o peptidoglicano crescem em direção um ao outro para formar um septo de divisão que separa as células-filhas.

A coloração de Gram perde confiabilidade para as bactérias que estão desnutridas por longo tempo (p.ex., culturas velhas ou em fase estacionária) ou foram tratadas com antibióticos, devido à degradação dos peptidoglicanos. As bactérias que não podem ser classificadas pela coloração de Gram incluem as micobactérias, que possuem um revestimento externo lipídico e são diferenciadas pelas colorações álcool-acidorresistentes, e os micoplasmas, que não possuem peptidoglicano.

Diferenciação Metabólica, Antigênica e Genética

O próximo nível de classificação baseia-se nas propriedades metabólicas das bactérias, que incluem necessidade de ambientes anaeróbicos ou aeróbicos, necessidade de nutrientes específicos (p.ex., capacidade para fermentar carboidratos específicos ou utilizar diferentes compostos como fonte de carbono para o crescimento), e produção de produtos metabólicos característicos (ácidos, álcoois) e de enzimas específicas (p.ex., catalase de estafilococos). Foram desenvolvidos procedimentos automatizados para diferenciação de bactérias enterais e outras bactérias, sendo que esses métodos analisam o crescimento em diferentes meios e os seus produtos microbianos e assim proporcionam um biotipo numérico para cada bactéria.

Uma determinada cepa bacteriana pode ser diferenciada a partir da utilização de anticorpos para detectar antígenos característicos da bactéria (**sorotipagem**). Esses testes sorológicos também podem ser utilizados para identificar organismos que são difíceis (*Treponema pallidum*, o organismo responsável pela sífilis) ou muito perigosos (p.ex., *Francisella*, o organismo que causa a tularemia), que não crescem no laboratório, que estão associados a síndromes de doenças específicas (p.ex., de *E. coli* sorotipo O157: H7, responsável pela colite hemorrágica), ou aqueles que devem ser rapidamente identificados (p.ex., *Streptococcus pyogenes*, responsável pela faringite estreptocócica). Sorotipagem também é utilizada para subdividir as bactérias além do nível de espécie, para fins epidemiológicos.

O método mais preciso para a classificação das bactérias é através da análise do material genético. Novos métodos diferenciam bactérias por características específicas de DNA. Essas técnicas incluem hibridização de DNA, amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR), sequenciamento de DNA e técnicas relacionadas, descritas no Capítulo 5. Essas técnicas genéticas não necessitam de bactérias vivas ou em crescimento e podem ser utilizadas para a rápida detecção e identificação de organismos de crescimento lento (p.ex., micobactérias, fungos), ou mesmo para análise de amostras enviadas ao laboratório de patologia, e de bactérias muito virulentas. Essa tecnologia já está disponível para a análise rápida das sequências de ácidos nucleicos de segmentos específicos ou a totalidade do cromossomo bacteriano. A aplicação mais comum dessa técnica é a análise de sequências de DNA ribossomal para detectar as sequências altamente conservadas, que identificam uma família ou gênero, e as sequências altamente variáveis, que distinguem uma espécie ou subespécie. Essas técnicas também têm sido utilizadas para definir a relação evolucionária entre organismos e identificar os organismos que

não podem ser cultivados ou são de difícil crescimento. Vários outros métodos que têm sido utilizados, principalmente para classificar os organismos ao nível de subespécie para investigações epidemiológicas, incluem: **análise plasmidial**, **ribotipagem** e **análise dos fragmentos de DNA cromossômico**. Nos últimos anos, os aspectos técnicos desses métodos foram simplificados de modo que a maioria dos laboratórios clínicos usa variações desses métodos em sua prática do dia a dia.

Estrutura Bacteriana

Estruturas Citoplasmáticas

O citoplasma da célula bacteriana contém o DNA cromossômico, o RNA mensageiro (RNAm), ribossomos, proteínas e metabólitos (Fig. 12-4). Ao contrário dos eucariotas, a maioria dos **cromossomos bacterianos** é uma fita única circular de cadeia dupla, que não está contida em um núcleo, mas em uma área definida conhecida como **nucleoide**. Algumas bactérias podem ter dois ou três cromossomos circulares ou até mesmo um único cromossomo linear. As histonas não estão presentes para manter a conformação do DNA, e o DNA não forma nucleossomos. Os **plasmídeos**, que são fragmentos extracromossômicos menores de DNA circular, também podem estar presentes. Os plasmídeos, embora geralmente não sejam essenciais para a sobrevivência celular, frequentemente fornecem uma vantagem seletiva: muitos conferem resistência a um ou mais antibióticos.

A falta de uma membrana nuclear simplifica as necessidades e os mecanismos de controle para a síntese de proteínas. Sem ela, a transcrição e a tradução são acopladas; em outras palavras, os ribossomos podem ligar-se ao RNAm, e a proteína pode ser produzida ao mesmo tempo que o RNAm está sendo sintetizado e ainda ligado ao DNA.

O **ribossomo bacteriano** consiste nas subunidades 30S + 50S, formando um ribossomo 70S, que é diferente do ribossomo eucariótico 80S (40S + 60S). As proteínas e RNA do ribossomo bacteriano são significativamente diferentes daqueles presentes nos ribossomos eucarióticos e são os principais alvos dos antimicrobianos.

A membrana citoplasmática tem uma estrutura de bicamada lipídica semelhante à estrutura das membranas eucarióticas, mas não contém esteroides (p.ex., colesterol); os micoplasmas são exceção a esta regra. A membrana citoplasmática é responsável por muitas das funções atribuídas às organelas nos eucariotas. Essas tarefas incluem o transporte de elétrons e a produção de energia, que normalmente são realizados na mitocôndria. Além disso, a membrana contém proteínas de transporte que permitem a absorção dos metabólitos e a liberação de outras substâncias, bomba de íons para manter o potencial de membrana, e enzimas. O interior da membrana está alinhado com filamentos de proteínas do tipo actina, que ajudam a determinar a forma das bactérias e o local de formação do septo para a divisão celular. Esses filamentos determinam a forma em espiral dos treponemas.

Parede Celular

A estrutura (Tabela 12-2), os componentes e as funções (Tabela 12-3) da parede celular distinguem as bactérias Grampositivas das bactérias Gram-negativas. Componentes da parede celular também são únicos para as bactérias, e as suas estruturas repetitivas se ligam a receptores-padrão de patógeno de células humanas para induzir respostas da imunidade inata. As diferenças importantes nas características da membrana estão descritas na Tabela 12-4. As camadas rígidas de **peptidoglicano (mureína)** circundam as membranas citoplasmáticas da maioria dos procariotas. As exceções são as *Archaea* (que contêm pseudoglicanos ou pseudomureínas), os micoplasmas (que não têm peptidoglicano). Como o peptidoglicano proporciona rigidez, ele também ajuda a determinar a forma particular de cada célula bacteriana. As bactérias Gram-negativas também são envolvidas por uma membrana externa.



Estrutura das Membranas Bacterianas

Estrutura	Constituintes Químicos	Funções		
Membrana plasmática	Fosfolipídios, proteínas e enzimas	Contenção, geração de energia, potencial de membrana e transporte		
Parede Celular	•			
Bactérias Gran	n-positivas			
Peptidoglicano	Cadeias de glicanos de GlcNAc e MurNAc interligadas por uma ponte peptídica	Forma e estrutura da célula; proteção contra o meio ambiente e o sistema complemento		
Ácido teicoico	Fosfato de polirribitol ou glicerol fosfato interligado ao peptidoglicano	Fortalecimento da parede celular; sequestro de íons cálcio		
Ácido lipoteicoico	Ácido teicoico ligado a um lipídio	Ativação das proteções inatas do hospedeiro		
Proteínas	Ligação covalente ou ligada ao peptidoglicano ou Evasão imune, ligação etc. ácido teicóico			
Bactérias Gran	n-negativas			
Peptidoglicano	Versão mais delgada que aquela encontrada nas bactérias Gram-positivas	Forma e estrutura celulares		
Espaço periplasmático		Enzimas envolvidas no transporte, degradação e síntese		
Membrana externa		Estrutura celular, proteção contra o ambiente do hospedeiro		
Proteínas	Canais de porinas	Permeabilidade às moléculas pequenas e hidrofílicas; restringe alguns antibióticos		
	Estruturas secretoras (tipos I, II, III, IV)	Penetração e entrega de proteínas através das membranas, incluindo fatores de virulência		
	Lipoproteínas	Ligação da membrana externa ao peptidoglicano		
LPS	Lipídio A, núcleo polissacarídico, antígeno O	Estrutura da membrana externa; potente ativador das respostas inatas do hospedeiro		
Fosfolipídios	Com ácidos graxos saturados			
Outras Estrutu	ras			
Cápsula	Polissacarídeos ou polipeptídeos (carbúnculo ou antraz)	Antifagocítica		
Biofilme	Polissacarídeos	Proteção da colônia contra o meio ambiente, agentes antimicrobianos e resposta do hospedeiro		
Pili	Pilina, adesinas	Aderência, pili sexuais		
Flagelos	Proteínas motoras, flagelinas	Movimento, quimiotaxia		
Proteínas	Proteína M de estreptococos (p.ex.)	Diversas		

 $\textit{GlcNAc, N-} Acetilglicosamina; \textit{LPS, lipopolissacar\'ideo}; \textit{MurNAc, \'acido N-} acetilmur\^amico.$



Funções do Envelope Bacteriano

Função	Componente			
Estrutura				
Rigidez	Todos			
Empacotamento dos conteúdos internos	Todos			
Funções Bacterianas				
Barreira de permeabilidade	Membrana externa ou membrana plasmática			
Captação de metabólitos	Membranas e proteínas de transporte periplasmático, porinas, permeases			
Produção de energia	Membrana plasmática			
Motilidade	Flagelo			
Conjugação	Pili			
Interação com o Hospedeiro				
Adesão às células hospedeiras	Pili, proteínas, ácido teicoico			
Reconhecimento imune pelo hospedeiro	Todas as estruturas externas e o peptidoglicano			
Escape da proteção imune do hospedeiro				
Anticorpo	Proteína A			
Fagocitose	Cápsula, proteína M			
Complemento	Peptidoglicano gram-positivo			
Relevância Médica				
Alvos de antibióticos	Síntese do peptidoglicano, membrana externa			
Resistência aos antibióticos	Barreira formada pela membrana externa			



Tabela 12-4

Características da Membrana de Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

Característica	Gram-positiva	Gram-negativa
Membrana externa	-	+
Parede celular	Espessa	Delgada
Lipopolissacarídeo	-	+
Endotoxina	-	+
Ácido teicoico	Frequentemente presente	_
Esporulação	Algumas espécies	_
Cápsula	Às vezes presente	Às vezes presente
Lisozima	Sensível	Resistente
Atividade antibacteriana da penicilina	Mais suscetível	Mais resistente
Produção de exotoxina	Algumas cepas	Algumas cepas

Bactérias Gram-positivas

A bactéria Gram-positiva apresenta uma parede celular espessa, de múltiplas camadas, que consiste principalmente em peptidoglicano (150 a 500 Å) em torno da membrana citoplasmática (Fig. 12-5). O peptidoglicano é uma malha de exoesqueleto com função semelhante à do exoesqueleto de um inseto. Porém, ao contrário do exoesqueleto dos insetos, o peptidoglicano da célula é suficientemente poroso para permitir a difusão de metabólitos até a membrana plasmática. Um

novo modelo de peptidoglicano sugere que o glicano se estende para o exterior da membrana plasmática como cerdas que são reticuladas com cadeias curtas de peptídeos. O **peptidoglicano é essencial** para a estrutura, replicação e sobrevivência em condições normalmente hostis nas quais as bactérias crescem.

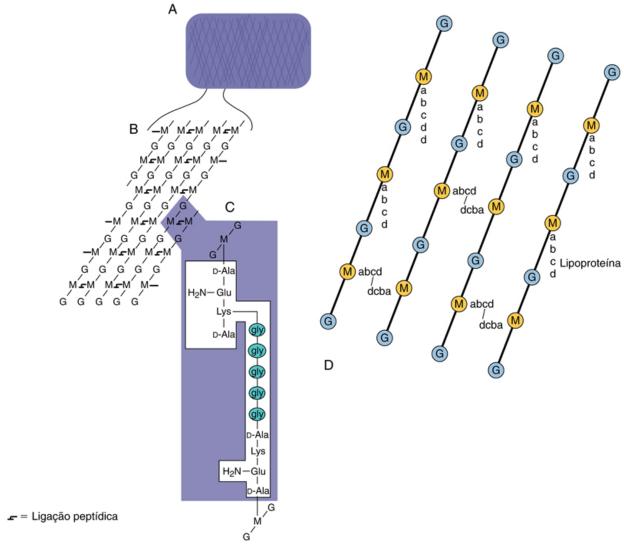


FIGURA 12-5 Estrutura geral dos componentes do peptidoglicano da parede celular. A, O peptidoglicano forma uma camada tipo malha em torno da célula. B, A malha de peptidoglicano consiste em um polímero polissacarídico que apresenta ligação cruzada através de pontes peptídicas. C, Os peptídeos são ligados cruzadamente através de ligação peptídica entre a d-alanina terminal (*D-Ala*) de uma cadeia e uma lisina (*Lys*) (ou um outro aminoácido diamino) de outra cadeia. Uma ponte pentaglicina (gly₅) expande as ligações cruzadas em *Staphylococcus aureus* (como mostrado). D, Representação da estrutura do peptidoglicano de *Escherichia coli*. O ácido diaminopimélico, o aminoácido diamino na terceira posição do peptídeo, está *diretamente ligado* à alanina terminal de uma outra cadeia para reticular o peptidoglicano. As lipoproteínas ancoram na membrana externa ao peptidoglicano. *G, N*-Acetilglicosamina; Glu, ácido D-glutâmico; *gly*, glicina; *M, N*-ácido acetilmurâmico. (A a C, Modificadas de Talaro K, Talaro A: *Foundations in microbiology*, ed 2, Dubuque, lowa, 1996, William C Brown. D, Modificada de Joklik WK, Willett HP, Amos DB, et al: *Zinsser microbiology*, Norwalk, Conn, 1988, Appleton & Lange

O peptidoglicano pode ser degradado pela **lisozima**. A lisozima é uma enzima presente nas lágrimas e no muco de seres humanos, mas é também produzida pelas bactérias e outros organismos. A lisozima cliva o esqueleto central de glicano do peptidoglicano. Sem o peptidoglicano, as bactérias não resistiriam às grandes diferenças de pressão osmótica ao longo da membrana citoplasmática e lisariam. A remoção da parede celular produz um **protoplasto** que lisa, a menos que seja estabilizado osmoticamente.

A parede celular das bactérias Gram-positivas também pode incluir outros componentes, tais como proteínas, ácidos teicoicos e lipoteicoicos e polissacarídeos complexos (geralmente chamados de **polissacarídeos** C). A proteína M dos estreptococos e a proteína A do *S. aureus* estão covalentemente ligadas ao peptidoglicano. Os **ácidos teicoicos** são polímeros aniônicos de fosfato de poliol hidrossolúveis, os quais estão covalentemente ligados ao peptidoglicano e são essenciais à viabilidade celular. Os **ácidos lipoteicoico**s possuem um ácido graxo e estão ancorados na membrana citoplasmática. Essas moléculas são antígenos comuns de superfície que distinguem os sorotipos bacterianos e promovem a fixação às outras bactérias e aos receptores específicos das superfícies de células de mamíferos (aderência). Ácidos teicoicos são importantes

fatores de virulência. Ácidos lipoteicoicos são liberados no meio e no hospedeiro e, embora mais fracos, ligam-se a receptores-padrão de patógeno e iniciam respostas de defesa inata do hospedeiro, similares à endotoxina.

Bactérias Gram-negativas

A parede celular das bactérias Gram-negativas é mais complexa que a parede das células Gram-positivas, tanto estrutural quanto quimicamente (Fig. 12-2). Estruturalmente, a parede celular Gram-negativa contém duas camadas externas à membrana citoplasmática. Imediatamente externa à membrana citoplasmática existe uma *fina camada de peptidoglicano*, que é responsável por apenas 5% a 10% do peso da parede celular das bactérias Gram-negativas. *Ácidos teicoicos ou lipoteicoicos não estão presentes* na parede celular de Gram-negativos. Externa à camada de peptidoglicano existe uma **membrana externa**, que é única para as bactérias Gram-negativas. A área entre a superfície externa da membrana citoplasmática e a superfície interna da membrana exterior é denominada de **espaço periplasmático**. Esse espaço é, na verdade, um compartimento que contém componentes do sistema de transporte de ferro, proteínas, açúcares e outros metabólitos, e uma variedade de enzimas hidrolíticas que são importantes na clivagem de macromoléculas para o metabolismo. Essas enzimas tipicamente incluem proteases, lipases, fosfatases, nucleases e enzimas de degradação carboidratos. No caso das espécies Gramnegativas patogênicas, muitos dos fatores de virulência, como colagenases, hialuronidases, proteases, e β-lactamases, localizam-se no espaço periplasmático.

A parede celular das bactérias Gram-negativas também é atravessada por diferentes sistemas de transporte, incluindo os sistemas de secreção dos tipos I, II, III, IV, V. Os sistemas de transporte fornecem mecanismos para a captação e liberação de diferentes metabólitos e outros compostos. A produção de sistemas de secreção pode ser induzida durante a infecção e contribuir para a virulência do micro-organismo, transportando moléculas que facilitam a adesão bacteriana ou o crescimento intracelular. O sistema de secreção do tipo III é o principal fator de virulência para algumas bactérias, com uma estrutura complexa que atravessa tanto a membrana interna quanto a membrana externa, e pode agir como uma seringa para injetar proteínas em outras células.

Como mencionado, as membranas externas (Fig. 12-2) são exclusivas das bactérias Gram-negativas. A membrana externa é como um saco de lona rígida em torno das bactérias que *mantém a estrutura bacteriana e funciona como uma barreira de permeabilidade a grandes moléculas* (p.ex., proteínas, como a lisozima) *e moléculas hidrofóbicas* (p.ex., alguns antimicrobianos). Ela também proporciona proteção contra as condições ambientais adversas, como o sistema digestivo do hospedeiro (importante para os organismos da família *Enterobacteriaceae*). A membrana externa apresenta uma estrutura em bicamada assimétrica que difere de qualquer outra membrana biológica na estrutura da monocamada exterior da membrana. A monocamada interna contém fosfolipídios normalmente encontrados nas membranas bacterianas. No entanto, a monocamada externa é composta principalmente de **lipopolissacarídeos (LPS)**. Exceto para as moléculas de LPS em processo de síntese, a monocamada exterior da membrana externa é o único local em que as moléculas de LPS são encontradas.

O LPS é também chamado de **endotoxina**, um potente estimulador das respostas imune e inata. O LPS é liberado pelas bactérias no hospedeiro. O LPS se liga a receptores-padrão de patógeno, ativa as células B e induz macrófagos, células dendríticas e outras células, a liberar interleucina (IL)-1, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF) e outros fatores. O LPS induz febre e pode causar choque. A **reação de Shwartzman** (coagulação intravascular disseminada) ocorre após a liberação de grandes quantidades de endotoxina na circulação sanguínea. As *Neisserias* liberam grandes quantidades de uma molécula relacionada, **lipoligossacarídeo** (LOS), resultando em febre e sintomas graves.

A variedade de proteínas que se encontram presentes nas membranas externas Gram-negativas é limitada, mas várias das proteínas estão presentes em concentrações elevadas, resultando em um conteúdo de proteína total maior que o da membrana citoplasmática. Muitas dessas proteínas se localizam de forma transversal na bicamada lipídica e são, portanto, denominadas de proteínas transmembranares. Um grupo dessas proteínas é conhecido como **porinas**, porque formam poros **que permitem a difusão de moléculas hidrofílicas menores de 700 Da de massa através da membrana.**Os canais de porinas permitem a passagem de metabólitos e moléculas pequenas de antimicrobianos hidrofílicos. A membrana exterior também contém proteínas estruturais, moléculas receptoras de bacteriófagos e outros ligantes e componentes dos sistemas de transporte e de secreção.

A membrana externa é conectada à membrana citoplasmática em pontos de adesão e é unida ao peptidoglicano através da **lipoproteína**. A lipoproteína é covalentemente ligada ao peptidoglicano e é ancorada na membrana externa. Os locais de adesão proporcionam uma rota membranosa para a liberação de componentes da membrana externa recém-sintetizados para a membrana externa.

A membrana externa é mantida unida por ligações de cátions divalentes (Mg⁺² e Ca⁺²) entre os fosfatos das moléculas de LPS e as interações hidrofóbicas entre o LPS e as proteínas. Essas interações produzem uma membrana forte e rígida que só pode ser rompida por antibióticos (p.ex., polimixina) ou pela remoção dos íons Mg e Ca (quelação com ácido etilenodiaminotetracético [EDTA] ou tetraciclina). O rompimento da membrana externa enfraquece as bactérias e permite a permeabilidade de grandes moléculas hidrofóbicas. O rompimento da membrana externa pode proporcionar a entrada de lisozima para produzir **esferoplastos**, que, como os protoplastos, são osmoticamente sensíveis.

Estruturas Externas

Algumas bactérias (Gram-positivas ou Gram-negativas) são envolvidas por polissacarídeos soltos (não fixados à célula) ou por camadas de proteína denominadas de **cápsulas**, algumas vezes referidas como *slime* ou **glicocálix**. *Bacillus anthracis*, uma exceção a esta regra, produz uma cápsula polipeptídica. A cápsula é dificilmente observada ao microscópio, mas o seu espaço pode ser visualizado, já que não pode ser corado pela tinta da Índia.

As cápsulas não são necessárias para o crescimento das bactérias, mas são muito importantes para a sua sobrevivência no hospedeiro. A cápsula é fracamente antigênica e antifagocítica e é um importante fator de virulência (p.ex., Streptococcus pneumoniae). A cápsula também pode atuar como uma barreira para moléculas hidrofóbicas tóxicas, como os detergentes, e pode promover a adesão a outras bactérias ou superfícies do tecido do hospedeiro. Para o Streptococcus mutans, as cápsulas de dextrana e levana são os meios pelos quais as bactérias se ligam e se fixam ao esmalte dentário. Cepas bacterianas que não possuem cápsula podem ser originadas durante crescimento sob condições laboratoriais, longe das pressões seletivas do hospedeiro e são, portanto, menos virulentas. Algumas bactérias (p.ex., Pseudomonas aeruginosa e S. aureus) também podem produzir um biofilme polissacarídico, quando um número suficiente (quorum) está presente e em condições que suportam o crescimento. O biofilme contém e protege a comunidade bacteriana dos antibióticos e das defesas do hospedeiro. Outro exemplo de biofilme é a placa dentária produzida por S. mutans.

Os **flagelos** são estruturas propulsoras tipo hélices, compostas de subunidades de proteína helicoidal enrolada **(flagelina)**, que estão ancoradas nas membranas bacterianas, através de um gancho e estruturas do corpo basal, e são orientadas por potenciais de membrana. As espécies bacterianas podem ter um ou vários flagelos nas suas superfícies, e eles podem estar ancorados em várias partes da célula. O potencial de membrana dá força ao motor proteico, que gira numa hélice na forma de um chicote, composta de várias subunidades de **flagelina**. Os flagelos promovem a motilidade para as bactérias, permitindo que a célula se movimente **(quimiotaxia)** na direção de nutrientes e fique distante de substâncias nocivas. As bactérias se aproximam do nutriente nadando em linha reta e, depois, desviando (andando em cambalhotas) em uma nova direção. O tempo de mobilidade torna-se mais longo à medida que aumenta a concentração do quimioatraente. A direção do movimento giratório flagelar determina se a bactéria nada ou anda em cambalhotas. Flagelos expressam determinantes antigênicos e de cepas, sendo os ligantes para o receptor padrão de patógeno que ativam a proteção inata do hospedeiro.

As **fímbrias** (*pili*) (do latim, "franjas") são estruturas semelhantes a pelos, presentes na superfície externa das bactérias; elas são compostas de subunidades proteicas (*pilina*). As fímbrias podem ser distinguidas morfologicamente dos flagelos, pois são menores em diâmetro (3 a 8 nm *versus* 15 a 20 nm) e geralmente não são estruturas enroladas. Em geral, várias centenas de fímbrias são dispostas em arranjos peritríquios (uniformes) sobre toda a superfície da célula bacteriana. Elas podem apresentar um tamanho de até 15 a 20 μm, ou, muitas vezes, o comprimento da própria célula.

As fímbrias promovem a adesão a outras bactérias ou ao hospedeiro (denominações alternativas são *adesinas*, *lectinas*, *evasinas* e *agressinas*). As pontas das fímbrias podem conter proteínas (lectinas) que se ligam a açúcares específicos (p.ex., manose). Como fator de adesão (adesina), as fímbrias são um importante fator de virulência para a colonização e infecção do trato urinário por *E. coli*, *Neisseria gonorrhoeae* e outras bactérias. Os *pili* F (*pili* sexuais) se ligam a outras bactérias e são um canal de transferência de grandes segmentos de cromossomos bacterianos entre bactérias. Esses *pili* são codificados por um plasmídeo (F).

Bactérias com Estruturas de Parede Celular Alternativas

As **micobactérias** possuem uma camada de peptidoglicano (estrutura ligeiramente diferente), que está covalentemente fixada e interligada a um polímero arabinogalactano e envolvida por uma camada lipídica cerosa de ácidos micólicos (grandes ácidos graxos extensos β-hidróxi-α ramificados), fator corda (glicolipídios de trealose e dois ácidos micólicos), cera D (glicolipídios de 15 a 20 ácidos micólicos e açúcar) e sulfolipídios (Fig. 22-1). Essas bactérias são descritas como álcool**acidorresistentes**. O revestimento externo é responsável pela virulência e é antifagocítico. *Corynebacterium* e *Nocardia* também produzem lipídios de ácidos micólicos. **Micoplasmas** não possuem parede celular de peptidoglicano e incorporam esteroides, provenientes do hospedeiro, em suas membranas.

Estrutura e Biossíntese dos Principais Componentes da Parede Celular Bacteriana

Os componentes da parede celular são grandes estruturas formadas de subunidades de polímeros. Este tipo de estrutura facilita a sua síntese. Como astronautas construindo uma estação espacial, as bactérias enfrentam problemas na montagem de suas paredes celulares. A síntese do peptidoglicano, LPS, ácido teicoico e da cápsula ocorre no exterior da bactéria, em um ambiente hostil e distante da maquinaria sintética e das fontes de energia do citoplasma. Tanto para a estação espacial quanto para as bactérias, precursores pré-fabricados e subunidades da estrutura final são montados em um cenário semelhante a uma fábrica no seu interior, ligados a uma estrutura semelhante a uma esteira transportadora, que é levada até a superfície e, em seguida, ligada à estrutura preexistente. Para as bactérias, a estrutura molecular do tipo esteira transportadora é um grande fosfolipídio hidrofóbico chamado bactoprenol (undecaprenol, [C₅₅ isoprenoide]). Os precursores pré-fabricados também devem ser ativados com ligações de alta energia (p.ex., fosfatos) ou outros meios que possibilitem as reações de fixação que ocorrem fora da célula. Para as bactérias Gram-negativas, os componentes da membrana externa são liberados através de pontos de adesão.

Peptidoglicano (Mucopeptídeo, Mureína)

O peptidoglicano é uma malha rígida composta por estruturas semelhantes a cerdas, formadas de cadeias de polissacarídeos lineares ligadas cruzadamente por peptídeos. O polissacarídeo é constituído de unidades repetidas de dissacarídeos de *N*-acetilglicosamina (GlcNAc, NAG, G) e ácido *N*-acetilmurâmico (MurNAc, NAM, M) (Figs. 12-5 e 12-6).

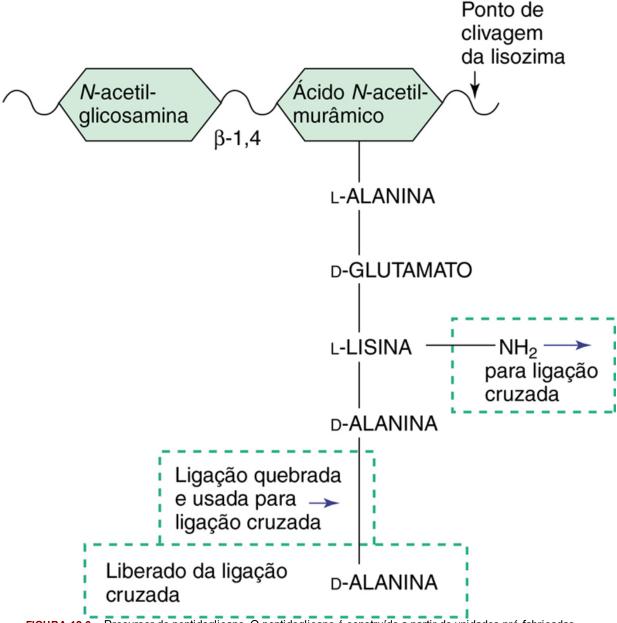


FIGURA 12-6 Precursor do peptidoglicano. O peptidoglicano é construído a partir de unidades pré-fabricadas que contêm um pentapeptídeo ligado ao ácido *N*-acetilmurâmico. O pentapeptídeo contém uma unidade D-alanina-D-alanina terminal. Esse dipeptídeo é necessário para a ligação cruzada do peptidoglicano e é a base para a ação dos antibióticos β-lactâmicos e vancomicina. A ligação β-1,4 do dissacarídeo clivada pela lisozima está indicada.

Um tetrapeptídeo está ligado ao MurNAc. O peptídeo é incomum, porque contém tanto aminoácidos D quanto L (aminoácidos D não são normalmente encontrados na natureza), e o peptídeo é produzido enzimaticamente e não no ribossomo. Os primeiros dois aminoácidos ligados ao MurNAc podem variar de acordo com os organismos.

Os aminoácidos diamino na terceira posição são essenciais para a ligação cruzada da cadeia de peptidoglicano. Exemplos de aminoácidos diamino incluem a lisina e os ácidos diaminopimélico e diaminobutírico. A ligação cruzada de peptídeos é formada entre a amina livre do aminoácido diamino e a D--alanina da quarta posição da outra cadeia. *S. aureus* e outras bactérias Gram-positivas usam uma ponte de aminoácidos (p.ex., um peptídeo glicina₅) entre esses aminoácidos para alongar a ligação cruzada. A forma precursora do peptídeo possui uma D-alanina extra, que é liberada durante o passo de ligação cruzada.

O peptidoglicano em bactérias Gram-positivas forma múltiplas camadas e é, frequentemente, ligado cruzadamente em três dimensões, proporcionando uma parede celular muito forte e rígida. Em contraste, o peptidoglicano da parede celular das bactérias Gram-negativas normalmente tem a espessura de apenas uma molécula (uma camada). O número de ligações

cruzadas e o comprimento da ligação cruzada determinam a rigidez da malha de peptidoglicano. O local onde a **lisozima** cliva o glicano do peptidoglicano é mostrado na Figura 12-6.

Síntese do Peptidoglicano

A síntese do peptidoglicano ocorre em quatro fases (Fig. 12-7). Primeiramente, os precursores são sintetizados e ativados no interior da célula. A glicosamina é enzimaticamente convertida em MurNAc e, então, energeticamente ativada por uma reação com trifosfato de uridina (UTP) para produzir o ácido uridina difosfato-N-acetilmurâmico (UDP-MurNAc). A seguir, o precursor UDP-MurNAc-pentapeptídeo é montado numa série de passos enzimáticos.

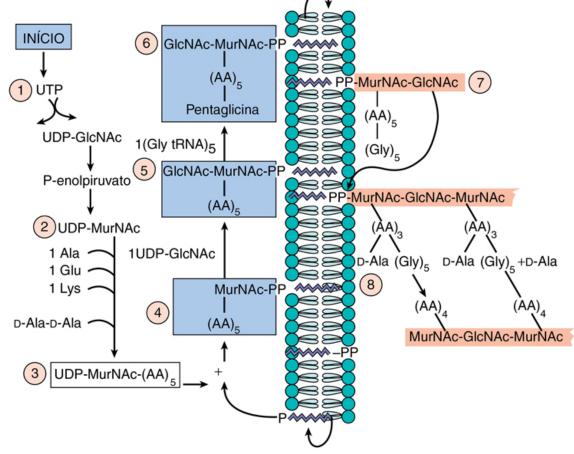
Síntese do peptidoglicano

 INTERIOR: Substratos solúveis são ativados e unidades de peptidoglicano são construídas.

Α

(2) MEMBRANA: Unidades ativadas são ligadas e montadas no eixo da membrana de fosfato de undecaprenol.

(3) EXTERIOR: As unidades de peptidoglicano se fixam e fazem a ligação cruzada ao polissacarídeo do peptidoglicano.



Reação de transpeptidação

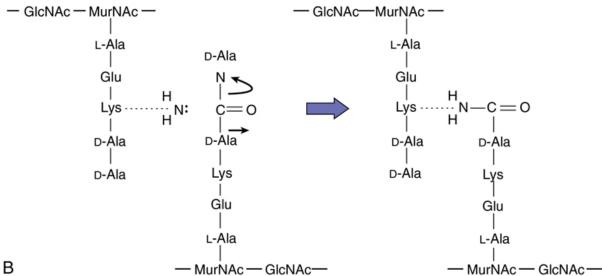


FIGURA 12-7 Síntese do peptidoglicano. **A**, A síntese do peptidoglicano ocorre em quatro fases: (1) O peptidoglicano é sintetizado a partir de unidades pré-fabricadas, construídas e ativadas para a montagem e transporte dentro da célula. (2) Na membrana, as unidades são montadas sobre uma esteira de fosfato de undecaprenol e a fabricação é finalizada. (3) A unidade é translocada para o exterior da célula e (4) ligada à cadeia polissacarídica, e o peptídeo é ligado cruzadamente para finalizar a construção. *Staphylococcus aureus* utiliza uma ponte pentaglicina nas ligações cruzadas. Esse tipo de construção pode ser comparado com a montagem de uma estação espacial com unidades pré-fabricadas. **B**, A reação de ligações cruzadas é denominada de transpeptidação. *Escherichia coli* utiliza uma ligação cruzada direta entre a D-alanina e lisina. Uma ligação peptídica (produzida dentro da célula) é trocada por outra (fora da célula) com a liberação da D-alanina. As enzimas que catalisam a reação são chamadas de *D-alanina, D-alanina-transpeptidase ou carboxipeptidases*. Essas enzimas são os alvos dos antibióticos β-lactâmicos e são chamadas de proteínas ligantes de penicilina. *AA*₅, pentapeptídeo com D-alanina-D-alanina; *AA*₄, tetrapeptídeo com D--alanina

terminal; AA_3 , tripeptídeo; Glu, glutamato; Gly_5 , pentapeptídeo glicina; Lys, lisina; MurNAc-PP, ácido N-acetilmurâmico difosfato; RNAt, ácido ribonucleico transportador; UDP-GlcNAc, uridina difosfato N-acetilglicosamina; UDP-MurNAc, difosfato de uridina-ácido N-acetilmurâmico; UTP, trifosfato de uridina.

Na segunda fase, o pentapeptídeo UDP-MurNAc é ligado ao **bactoprenol** (esteira transportadora) na membrana citoplasmática através de uma ligação pirofosfato, com a liberação de monofosfato de uridina (UMP). GlcNAc é adicionado para formar o bloco de construção do dissacarídeo do peptidoglicano. Algumas bactérias (p.ex., *S. aureus*) adicionam uma pentaglicina ou outra cadeia ao aminoácido diamino na terceira posição da cadeia peptídica para alongar a ligação cruzada.

Na terceira fase, a molécula de bactoprenol transloca o dissacarídeo/peptídeo precursor para o exterior da célula.

Na última fase, o peptidoglicano é estendido na superfície externa da membrana plasmática. O dissacarídeo GlcNAc-MurNAc é ligado a uma cadeia de peptidoglicano, utilizando a ligação pirofosfato entre ele e o bactoprenol como energia para conduzir as reações catalisadas pelas enzimas denominadas **transglicosilases**. O pirofosfobactoprenol é convertido novamente em um fosfobactoprenol e, assim, reciclado. A **bacitracina** bloqueia essa reciclagem. As cadeias peptídicas a partir das cadeias de glicano adjacentes são ligadas cruzadamente umas às outras, por uma troca de ligação peptídica (**transpeptidação**) entre a amina livre do aminoácido na terceira posição do pentapeptídeo (p.ex., lisina), ou ao grupamento *N*-terminal da cadeia de pentaglicina ligada, e à D-alanina da quarta posição da outra cadeia peptídica, liberando a D-alanina terminal do precursor. Esta etapa não requer energia adicional, pois as ligações peptídicas são "negociadas".

A reação cruzada é catalisada por **transpeptidases** ligadas à membrana. Enzimas relacionadas, **d-carboxipeptidases**, removem os resíduos D-alanina terminais que não reagiram para limitar a extensão das ligações. As transpeptidases e as carboxipeptidases são chamadas de **proteínas ligantes de penicilina (PBP,** do inglês, *penicillin-binding proteins*) porque elas são alvos da penicilina e outros antibióticos β-lactâmicos. A *penicilina* e os **antibióticos** β-lactâmicos relacionados assemelham-se à conformação do "estado de transição" do substrato de d-Ala-d-Ala quando ligados a essas enzimas. A **vancomicina** se liga à estrutura d-Ala-d-Ala para bloquear estas reações. Diferentes PBP são utilizadas para estender o peptidoglicano, criando um septo para a divisão celular e curvando a malha peptidoglicano (forma da célula). A extensão do peptidoglicano e a ligação cruzada são necessárias para o crescimento e divisão celulares. O peptidoglicano está constantemente sendo sintetizado e degradado. As **autolisinas**, tais como lisozima, são importantes para determinar a forma bacteriana. A inibição da síntese ou das ligações cruzadas do peptidoglicano não impede a atividade das autolisinas, e a sua ação enfraquece a malha e leva à lise celular e à morte. Nova síntese do peptidoglicano não ocorre durante a privação, o que leva a um enfraquecimento do peptidoglicano e a uma perda na confiabilidade da coloração de Gram.

A compreensão da biossíntese de peptidoglicanos é essencial na medicina, porque essas reações são exclusivas das células bacterianas e, portanto, podem ser inibidas com pouco ou nenhum efeito adverso para as células do hospedeiro (humano). Como indicado anteriormente, um certo número de agentes antibacterianos atua em uma ou mais etapas desta via (Cap. 17).

Ácido Teicoico

Os ácidos teicoico e lipoteicoico são polímeros de ribose ou glicerol quimicamente modificados, ligados por fosfatos (Fig. 12-8). Açúcares, colina ou d-alanina podem ser ligados aos grupos hidroxila da ribose ou do glicerol, constituindo determinantes antigênicos. Estes podem ser distinguidos por meio de anticorpos e podem determinar o sorotipo bacteriano. O ácido lipoteicoico possui um ácido graxo e está ancorado na membrana. O ácido teicoico é sintetizado a partir de blocos de construção que utilizam o bactoprenol de uma maneira semelhante à do peptidoglicano. O ácido teicoico é enzimaticamente ligado à porção *N*-terminal do peptídeo de peptidoglicano e também excretado a partir das células.

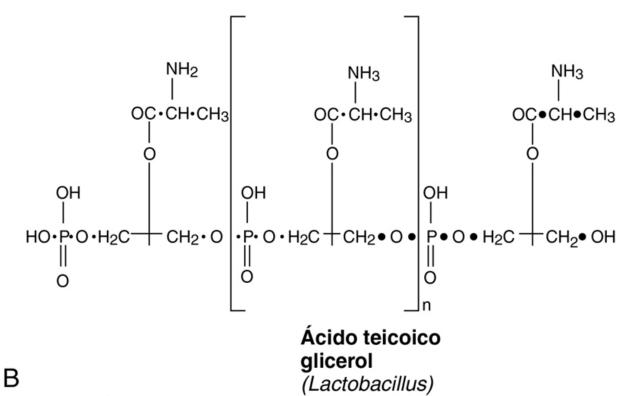
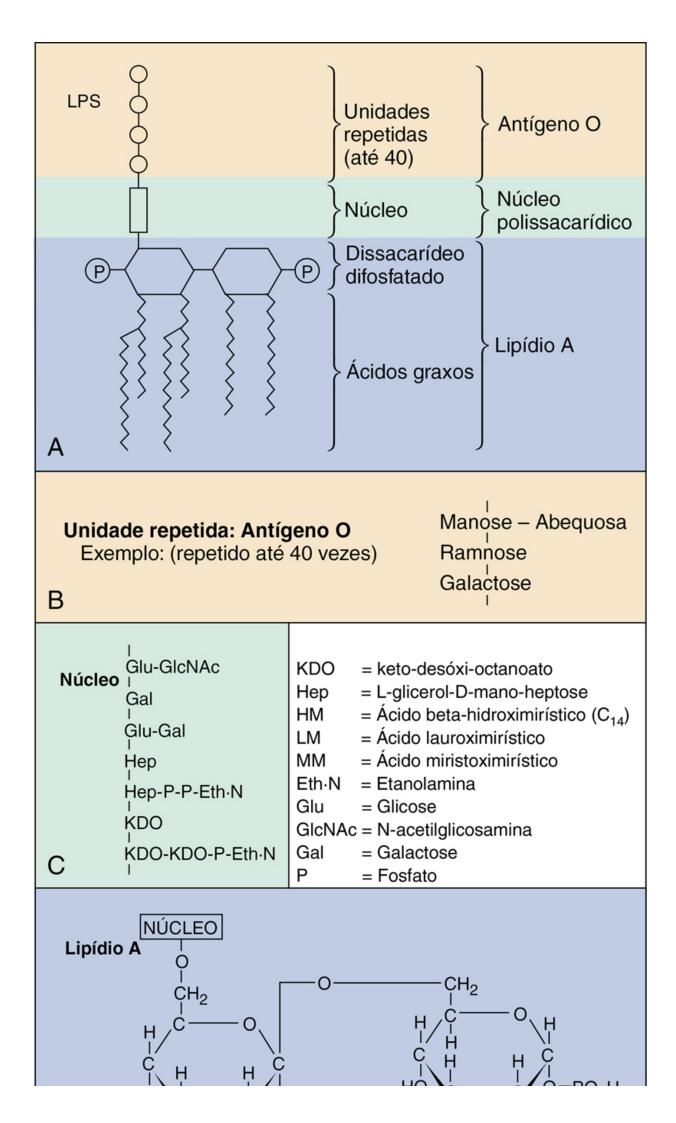


FIGURA 12-8 Ácido teicoico. O ácido teicoico é um polímero de ribitol quimicamente modificado (A) ou glicerol fosfato (B). A natureza da modificação (p.ex., açúcares, aminoácidos) pode definir o sorotipo das bactérias. O ácido teicoico é covalentemente ligado ao peptidoglicano. O ácido lipoteicoico está ancorado na membrana citoplasmática por um ácido graxo através de ligação covalente.

Lipopolissacarídeo

O LPS (endotoxina) consiste em três seções estruturais: lipídio A, núcleo polissacarídico (cerne rugoso) e antígeno O (Fig. 12-9). O lipídio A é um componente básico do LPS e é essencial para a viabilidade bacteriana. O lipídio A é responsável pela atividade de endotoxina do LPS. Ele possui um esqueleto dissacarídeo glicosamina fosforilado com ácidos graxos ligados para ancorar a estrutura na membrana externa. Os fosfatos conectam as unidades de LPS em agregados. Uma cadeia de carboidrato é ligada a cada esqueleto dissacarídeo e se estende para fora da bactéria. O cerne polissacarídico é um polissacarídeo ramificado de nove a 12 açúcares. A região do cerne também é essencial para a estrutura do LPS e para a viabilidade bacteriana. A região nuclear contém um açúcar incomum, 2-ceto-3-desóxi-octanoato (KDO), e é fosforilada. Cátions divalentes se ligam aos fosfatos do LPS para fortalecer a membrana externa.



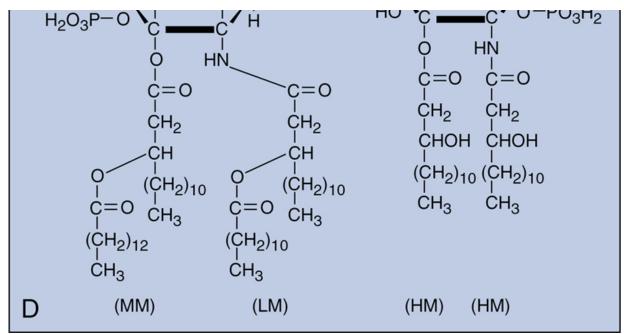


FIGURA 12-9 O lipopolissacarídeo (*LPS*) do envelope celular Gram-negativo. **A**, Segmento da molécula mostrando a disposição dos principais constituintes. Cada molécula de LPS possui um lipídio A e uma unidade de núcleo polissacarídico, mas muitas repetições do antígeno O. **B**, Típica unidade repetida do antígeno O (*Salmonella typhimurium*). **C**, Núcleo polissacarídico. **D**, Estrutura do lipídio A de *S. typhimurium*. (Modificada de Brooks GF, Butel JS, Ornston LN: *Jawetz, Melnick, and Aldenberg's medical microbiology*, ed 19, Norwalk, Conn, 1991, Appleton & Lange.)

O antígeno O está ligado ao núcleo e se estende para fora da bactéria. É um polissacarídeo longo e linear, consistindo em 50 a 100 unidades sacarídicas de repetição de quatro a sete açúcares por unidade. O **lipo-oligossacárido** (**LOS**), que está presente nas espécies de *Neisseria*, não possui a porção antígeno O do LPS e é rapidamente liberado pelas bactérias. O antígeno O mais curto faz que as *Neisseria* sejam mais sensíveis à lise do complemento mediado pelo hospedeiro.

A estrutura LPS é usada para classificar as bactérias. A estrutura básica do lipídio A é idêntica para bactérias relacionadas e é semelhante para todas as bactérias Gram-negativas da família *Enterobacteriaceae*. A região do cerne é a mesma para uma espécie bacteriana. O antígeno O distingue os sorotipos (cepas) de uma mesma espécie bacteriana. Por exemplo, o sorotipo O157: H7 (antígeno O: flagelina) identifica a *E. coli*, agente da síndrome hemolítico-urêmica.

O lipídio A e as porções nucleares são enzimaticamente sintetizados de uma maneira sequencial na superfície interna da membrana citoplasmática. As unidades de repetição do antígeno O são montadas em uma molécula de bactoprenol e depois transferidas para uma cadeia crescente de antígeno O. A cadeia de antígeno O finalizada é transferida para o cerne da estrutura do lipídio A. A molécula de LPS é translocada, através de pontos de adesão, para a superfície externa da membrana externa.

Divisão Celular

A replicação do cromossomo bacteriano também desencadeia o início da divisão celular (Fig. 12-10). A produção de duas bactérias-filha requer crescimento e extensão dos componentes da parede celular, seguidos da produção de um septo (parede transversa) para dividir as bactérias-filhas em duas células. O septo consiste em duas membranas separadas por duas camadas de peptidoglicano. A formação do septo é iniciada no meio da célula, em um ponto definido por complexos proteicos fixados a um anel de filamento proteico que reveste o interior da membrana citoplasmática. O septo cresce a partir de lados opostos em direção ao centro da célula, levando à clivagem das células-filhas. Este processo requer transpeptidases especiais (PBP) e outras enzimas. Para os estreptococos, a zona de crescimento situa-se a 180 graus uma da outra, produzindo cadeias lineares de bactérias. Em contraste, a zona de crescimento de estafilococos é a 90 graus. A clivagem incompleta do septo pode fazer que as bactérias permaneçam ligadas, formando cadeias (p.ex., estreptococos) ou agregados (p.ex., estafilococos).

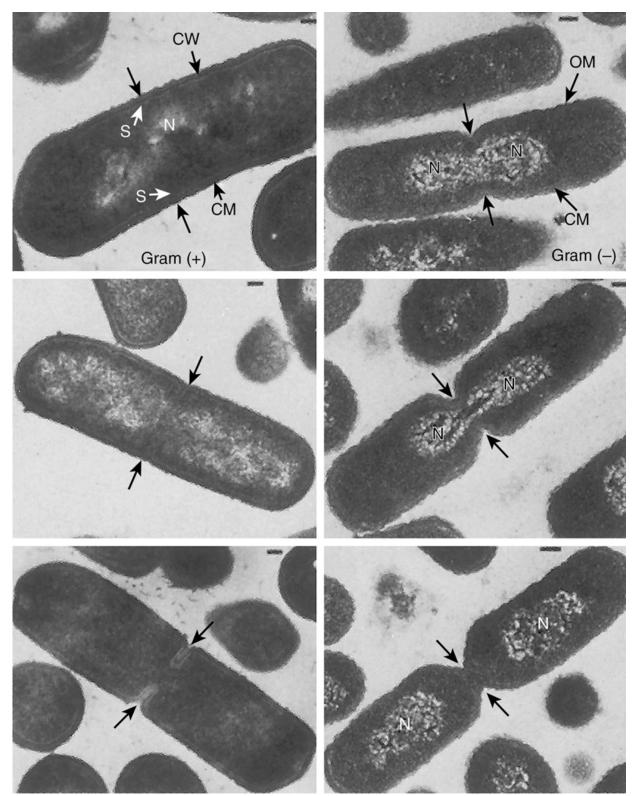


FIGURA 12-10 Fotomicrografia eletrônica da divisão celular Gram-positiva (*Bacillus subtilis*) (à esquerda) e divisão celular Gram-negativa (*Escherichia coli*) (à direita). Progressão na divisão celular de cima para baixo. *CM*, membrana citoplasmática; *CW*, parede celular; *N*, nucleoide; *OM*, membrana externa; *S*, septo. Barra = 0,2 µm. (De Slots J, Taubman MA: *Contemporary oral biology and immunology*, St Louis, 1992, Mosby.)

Esporos

Algumas bactérias Gram-positivas, mas nunca as Gram-negativas, tais como os membros dos gêneros Bacillus (p.ex., Bacillus anthracis) e Clostridium (p.ex., Clostridium tetani ou botulinum) (bactérias do solo), são formadoras de esporos. Sob condições ambientais adversas, como a privação de requerimento nutricional, essas bactérias podem ser convertidas de um **estado vegetativo** a um **estado dormente**, ou **esporos**. A localização do esporo dentro de uma célula é uma característica das bactérias e pode ajudar na sua identificação.

O esporo é uma estrutura desidratada, de múltiplas camadas, que protege e permite que as bactérias sobrevivam em um "estado de animação suspenso" (Fig. 12-11). Ele contém uma cópia completa do cromossomo, concentrações mínimas de proteínas essenciais e ribossomos, e uma elevada concentração de **cálcio ligado ao ácido dipicolínico**. O esporo possui uma

membrana interna, duas camadas de peptidoglicano, e revestimento externo de proteína do tipo queratina. Os esporos aparecem refringentes (brilhantes) no microscópio. A estrutura do esporo protege o DNA genômico do calor intenso, da radiação e do ataque pela maioria das enzimas e agentes químicos. De fato, os esporos bacterianos são tão resistentes aos fatores ambientais que eles podem permanecer viáveis durante séculos. Os esporos também são difíceis de descontaminar com desinfetantes padrão ou condições de autoclavagem.

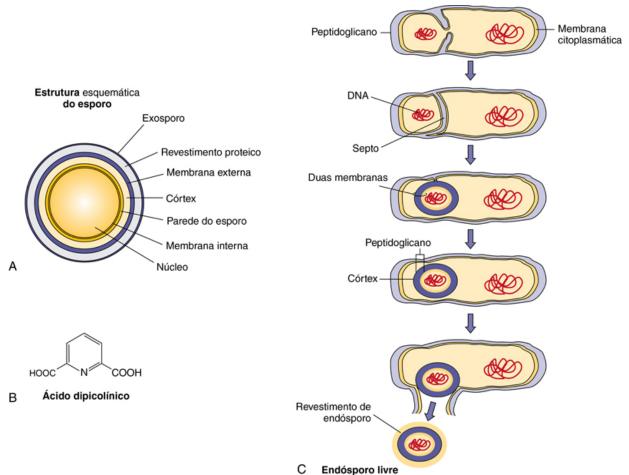


FIGURA 12-11 A, Estrutura de um esporo. **B**, Altas concentrações de ácido dipicolínico no esporo ligam cálcio e estabilizam os conteúdos. **C,** Esporogênese, o processo de formação de endósporos.

A depleção de nutrientes específicos (p.ex., alanina) a partir do meio de crescimento desencadeia uma cascata de eventos genéticos (comparável à diferenciação celular) levando à produção de um esporo. Os RNAm de esporos são transcritos, enquanto outros RNAm são inibidos. O ácido dipicolínico é produzido, e antibióticos e toxinas são frequentemente excretados. Após a duplicação do cromossomo, uma cópia do DNA e dos conteúdos citoplasmáticos (cerne) é circundada pela membrana citoplasmática, o peptidoglicano e a membrana do septo. Isto envolve o DNA nas duas camadas de membrana e peptidoglicano que normalmente dividem a célula. Essas duas camadas são envolvidas pelo córtex, que é constituído por uma camada interna delgada de peptidoglicano fortemente reticulada em torno de uma membrana (que costuma ser a membrana citoplasmática) e uma camada exterior de peptidoglicano solto. O córtex é envolvido por um resistente revestimento proteico tipo queratina, que protege o esporo. O processo completo requer de 6 a 8 horas.

A germinação de esporos para a um estado vegetativo é estimulada pela ruptura do revestimento externo por estresse mecânico, pH, calor ou outro estressor e requer água e um nutriente desencadeador (p.ex., alanina). O processo leva aproximadamente 90 minutos. Após o início do processo de germinação, o esporo absorverá a água, inchará, liberará seus revestimentos e produzirá uma nova célula vegetativa idêntica à célula vegetativa original, completando assim o ciclo inteiro. Uma vez que a germinação tenha iniciado, o revestimento externo fica comprometido, o esporo é enfraquecido e fica vulnerável, e pode ser inativado como outras bactérias.

Referências Bibliográficas

Bower S, Rosenthal KS. Bacterial cell walls: the armor, artillery and Achilles heel. Infect Dis Clin Pract. 2006;14:309-317.

Daniel RA, Errington J. Control of cell morphogenesis in bacteria: two distinct ways to make a rod-shaped cell. *Cell*. 2003;113:767–776. Lutkenhaus J. The regulation of bacterial cell division: a time and place for it. *Curr Opin Microbiol*. 1998;1:210–215.

Meroueh SO, Bencze KZ, Hesek D, et al. Three-dimensional structure of the bacterial cell wall peptidoglycan. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:4404–4409.

Nanninga N. Morphogenesis of Escherichia coli. Microbiol Mol Biol Rev. 1998;62:110-129.

Staley JT, Gunsalus RP, Lory S, et al. *Microbial life*. ed 2 Sunderland, Mass: Sinauer; 2007.

Talaro K. Foundations in microbiology. ed 6 New York: McGraw-Hill; 2008.

Willey J, Sherwood L, Woolverton C. Prescott/Harley/Klein's microbiology. ed 7 New York: McGraw-Hill; 2007.

Metabolismo Bacteriano e Genética

Metabolismo Bacteriano

Exigência Metabólica

O crescimento bacteriano exige uma fonte de energia e as matérias-primas para a produção de proteínas, estruturas e membranas que compõem e fornecem energia para a célula. As bactérias devem obter ou sintetizar os aminoácidos, carboidratos e lipídios utilizados como componentes básicos da célula.

Os requisitos mínimos para o crescimento são: uma fonte de carbono e nitrogênio, uma fonte de energia, água e vários íons. Os elementos essenciais incluem os componentes das proteínas, dos lipídios e dos ácidos nucleicos (C, O, H, N, S, P), íons importantes (K, Na, Mg, Ca, Cl), e componentes de enzimas (Fe, Zn, Mn, Mo, Se, Co, Cu, Ni). O **ferro** é tão importante que muitas bactérias excretam proteínas especiais (sideróforos) para concentrar ferro a partir de soluções diluídas, e, por outro lado, nossos corpos sequestram o ferro para reduzir sua disponibilidade como uma forma de proteção.

O oxigênio (O₂ gasoso), embora essencial ao hospedeiro humano, é, na verdade, um veneno para muitas bactérias. Alguns micro-organismos (p.ex., *Clostridium perfringens*, que causa gangrena gasosa) não são capazes de crescer em presença de oxigênio. Tais bactérias são denominadas **anaeróbios obrigatórios**. Outros organismos (p.ex., *Mycobacterium tuberculosis*, que causa tuberculose) necessitam da presença de oxigênio molecular para seu metabolismo e crescimento, sendo, portanto, denominados **aeróbios obrigatórios**. A maioria das bactérias, no entanto, cresce tanto na presença quanto na ausência de oxigênio. Essas bactérias são denominadas **anaeróbios facultativos**. Bactérias aeróbicas produzem as enzimas superóxido dismutase e catalase, que são capazes de destoxificar o peróxido de hidrogênio e os radicais superóxido, subprodutos tóxicos do metabolismo aeróbico.

As exigências de crescimento e os subprodutos do metabolismo podem ser usados como formas convenientes de classificação de diferentes bactérias. Algumas bactérias, como certas cepas de *Escherichia coli* (um componente da flora intestinal), são capazes de sintetizar todos os aminoácidos, nucleotídeos, lipídios e carboidratos necessários para o seu crescimento e divisão, enquanto as exigências de crescimento do agente causador da sífilis, *Treponema pallidum*, são tão complexas que ainda é necessário o desenvolvimento de um meio de cultura capaz de permitir o seu crescimento. Bactérias que dependem exclusivamente de moléculas inorgânicas como fonte de energia e carbono (dióxido de carbono [CO₂]) são denominadas autotróficas (litotróficas), enquanto muitas bactérias e células animais que necessitam de fontes orgânicas de carbono são conhecidas como heterotróficas (organotróficas). Laboratórios de microbiologia clínica distinguem bactérias a partir da sua capacidade de crescer frente a diferentes fontes de carbono (p.ex., lactose) e dos produtos finais de seu metabolismo (p.ex., etanol, ácido lático, ácido succínico).

O metabolismo das bactérias da flora normal é otimizado para o pH, concentração iônica, e tipos de alimento presentes no seu meio ambiente, dentro do corpo. Tal como no rúmen de uma vaca, as bactérias do trato gastrintestinal (GI) decompõem os hidratos de carbono complexos em compostos simples e produzem ácidos graxos de cadeia curta (p.ex., butirato, propionato, lactato, acetato) como subprodutos da **fermentação**. O ácido lático e os ácidos graxos de cadeia curta que são produzidos podem diminuir o pH luminal e são absorvidos e metabolizados mais rapidamente. As alterações na dieta, água, ou saúde, antibióticos e certas drogas podem alterar o ambiente e influenciar o metabolismo e composição dos micróbios no trato GI. Os probióticos são bactérias que podem melhorar a função da flora normal (Quadro 13-1).



Quadro 13-1 Metabolismo dos Probióticos e Micro-organismos

Gastrintestinais

Os micro-organismos probióticos são primariamente bactérias Gram-positivas e incluem o Lactobacillus spp., Bifidobacterium spp. e as leveduras Saccharomyces boulardii (Stone S, Edmonds R, Rosenthal KS: Probiotics: helping out the normal flora, Infect Dis Clin Pract 21:305–311, 2013; Saad N, Delattre C, Urdaci M, et al: An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field, Food Sci Technol 50:1–16, 2013). Bifidobacterium infantis é uma das bactérias adquiridas pelos recém-nascidos e em seguida selecionada pelos hidratos de carbono complexos do leite da mãe. Os probióticos consistem em micróbios que podem ser ingeridos, facilitando o desenvolvimento e manutenção de uma flora intestinal saudável, influenciando as células do sistema imunitário. Muitas dessas bactérias probióticas estão presentes no iogurte e são capazes de metabolizar os hidratos de carbono complexos, incluindo aqueles no leite. Essas bactérias decompõem os hidratos de carbono complexos em compostos mais simples e produzem ácidos graxos de cadeia curta (p.ex., butirato, propionato, latato, acetato) como subprodutos da fermentação. O ácido lático e os ácidos

graxos de cadeia curta produzidos podem diminuir o pH luminal e são absorvidos e metabolizados mais rapidamente. A acidificação do cólon pode selecionar e promover o crescimento de bactérias benéficas endógenas, produtoras de lactato. Os ácidos graxos de cadeia curta são absorvidos pelo intestino e metabolizados de forma mais eficiente pelo corpo, aumentando o crescimento celular e melhorando a função de barreira das células epiteliais que revestem o trato gastrintestinal, assim como suportando o crescimento de células T reguladoras (Treg) para limitar as respostas inflamatórias e autoimunes (Smith PM, Howitt MR, Panikov N, et al: *The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis*, Science 341:569–573, 2013.)

Algumas bactérias da flora normal, tais como *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, são mais eficientes que outras em decompor os hidratos de carbono complexos, incluindo compostos da parede celular vegetal (celulose, pectina, xilano) e mucinas ou sulfatos de condroitina da camada mucosa protetora do intestino. O aumento da proporção dessas bactérias no microbioma intestinal pode levar à obesidade (Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, et al: *Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5*, Science 328:228–231, 2010.)

Metabolismo, Energia e Biossíntese

Todas as células necessitam de um suprimento constante de energia para sobreviver. Essa energia é derivada da degradação controlada de vários substratos orgânicos (carboidratos, lipídios e proteínas). Esse processo de quebra de um substrato e sua conversão em uma forma utilizável de energia é conhecido como **catabolismo**. A energia produzida pode então ser utilizada na síntese dos constituintes celulares (paredes celulares, proteínas, ácidos graxos, ácidos nucleicos), um processo conhecido como **anabolismo**. Juntos, esses dois processos, que são correlacionados e intimamente integrados, são denominados **metabolismo intermediário**.

O processo metabólico normalmente inicia com a hidrólise de grandes macromoléculas por enzimas específicas no espaço extracelular (Fig. 13-1). As menores moléculas que são produzidas (p.ex., monossacarídeos, pequenos peptídeos, ácidos graxos) são transportadas através da membrana até o citoplasma por mecanismos de transporte ativo ou passivo específicos para cada metabólito. Esses mecanismos podem utilizar transportadores específicos ou proteínas de transporte presentes na membrana para auxiliar na concentração dos metabólitos presentes no meio. Os metabólitos são convertidos por uma ou mais vias a um intermediário universal comum, o **ácido pirúvico**. A partir do ácido pirúvico, os carbonos podem ser destinados para a produção de energia ou para a síntese de novos carboidratos, aminoácidos, lipídios e ácidos nucleicos.

CATABOLISMO

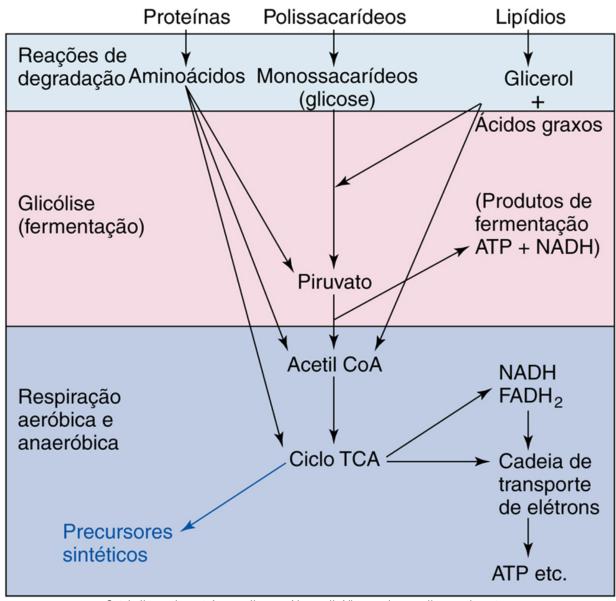


FIGURA 13-1 Catabolismo de proteínas, polissacarídeos e lipídios produzem glicose, piruvato ou intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (*TCA*) e, ao fim do ciclo, energia na forma de trifosfato de adenosina (*ATP*) ou a forma reduzida de nicotinamida-adenina dinucleotídeo (*NADH*). CoA, Coenzima A.

Em vez de liberar toda a energia da glicose na forma de calor (como para combustão), as bactérias degradam a glicose em passos discretos e capturam a energia em formas químicas e eletroquímicas utilizáveis. A energia química ocorre tipicamente na forma de uma ligação de fosfato de alta energia, no **trifosfato de adenosina (ATP)** ou trifosfato de guanosina (GTP), ao passo que a energia eletroquímica é armazenada por redução (adição de elétrons) da **nicotinamida-adenina dinucleotídeo (NAD)** ao **NADH** ou da flavina-adenina dinucleotídeo (FAD) para FADH₂. **O NADH** pode ser convertido por uma série de reações de oxidação-redução em **gradientes de potencial elétrico (Eh)** e químico (pH) através da membrana citoplasmática. A energia eletroquímica pode ser utilizada pela **ATP sintase** para propulsionar a fosforilação do ADP em ATP e também mover a rotação de flagelos e o transporte de moléculas através da membrana.

Bactérias podem produzir energia a partir da glicose por — em ordem de aumento de eficiência — fermentação, respiração anaeróbica (ambas ocorrem na ausência de oxigênio) ou respiração aeróbica. A respiração aeróbica é capaz de converter completamente os seis carbonos da glicose em CO₂ e água (H₂O) mais energia, enquanto os produtos da fermentação são compostos de dois ou três carbonos. Para uma discussão mais completa do metabolismo, é recomendado consultar um livro de bioquímica.

Glicólise e Fermentação

A via glicolítica mais comum, a via Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), ocorre tanto em condições aeróbias e anaeróbias. Essa via produz duas moléculas de ATP por cada molécula de glicose, duas moléculas de forma reduzida do nicotinamida-adenina dinucleotídeo (NADH) e duas moléculas de piruvato.

A **fermentação** ocorre sem oxigênio, e o ácido pirúvico produzido pela glicólise é convertido em diversos produtos finais, dependendo da espécie bacteriana. Muitas bactérias são identificadas baseando-se nos seus produtos finais da fermentação (Fig. 13-2). Essas moléculas, mais que o oxigênio, são usadas como aceptores de elétrons para reciclar o NADH a NAD. Em

leveduras, o metabolismo fermentativo resulta na conversão de piruvato a etanol e CO₂. A fermentação alcoólica é incomum em bactérias, as quais usualmente utilizam a conversão, em uma etapa, de ácido pirúvico a ácido lático. Esse processo é responsável pela transformação de leite em iogurte e repolho em chucrute. Outras bactérias utilizam vias fermentativas mais complexas, produzindo diversos ácidos, álcoois e, frequentemente, gases (muitos dos quais possuem odores desagradáveis). Esses produtos conferem sabores a diversos queijos e vinhos, e odores a feridas e outras infecções.

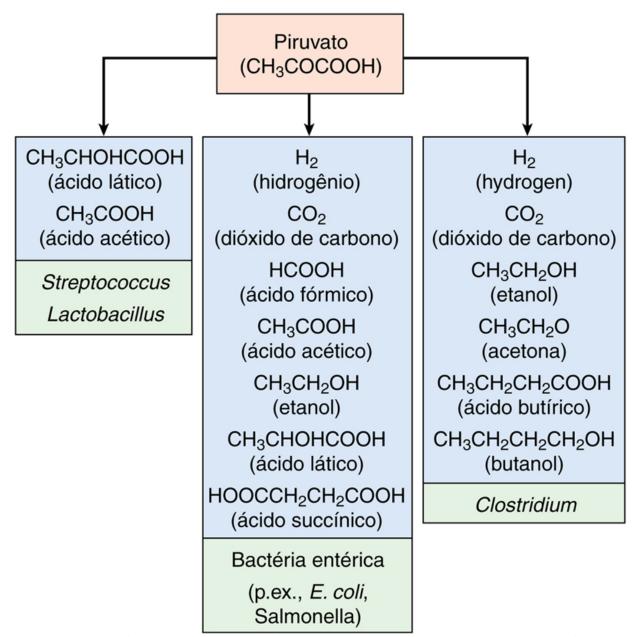


FIGURA 13-2 A fermentação do piruvato por diferentes micro- organismos resulta em diferentes produtos finais. Os laboratórios clínicos usam essas vias e produtos finais como uma forma de distinguir diferentes bactérias.

Respiração Aeróbica

Na presença de oxigênio, o ácido pirúvico produzido na glicólise e no metabolismo de outros substratos pode ser completamente oxidado (combustão controlada) a H₂O e CO₂ utilizando-se o ciclo do ácido tricarboxílico (ATC), o qual resulta na produção adicional de energia. O processo começa com a produção de acetil-coenzima A (acetil-CoA) e liberação de CO₂, e também produz duas moléculas de NADH a partir do piruvato. Os dois carbonos restantes derivados de piruvato no acetil-CoA, em seguida, entram no TCA acoplando ao oxaloacetato para formar a molécula citrato de seis carbonos. Em uma série de passos de reações oxidativas, o citrato é convertido de volta a oxaloacetato (ciclo). O rendimento teórico de cada mol de piruvato é de 2 moles de CO₂, 3 moles de NADH, 1 mol de flavina-adenina dinucleotídeo (FADH₂) e 1 mol de trifosfato de guanosina (GTP).

O ciclo do ATC permite que o organismo produza substancialmente mais energia por mol de glicose que seria possível apenas pela glicólise. Adicionalmente ao GTP (um equivalente do ATP) produzido pela fosforilação ao nível do substrato, a conversão do NADH e FADH₂ de volta a NAD e FAD contribui com elétrons para a cadeia de transporte de elétrons para produzir ATP. Nessa cadeia, os elétrons são transpostos passo a passo através de uma série de pares doador-aceptor (p.ex.,

citocromos) e, finalmente, ao oxigênio (**respiração aeróbica**) para produzir 3 moléculas de ATP para cada molécula de NADH e 2 ATP para cada FADH₂. Enquanto a fermentação produz apenas duas moléculas de ATP por glicose, o metabolismo com transporte de elétrons e o ciclo do ATC completo pode gerar 19 vezes mais energia (38 moléculas de ATP) a partir do mesmo material de partida (e com odor bem mais agradável).

Além da produção eficiente de ATP a partir da glicose (e de outros carboidratos), o ciclo do ATC proporciona uma forma na qual os carbonos derivados de **lipídios** (na forma de acetil-CoA) podem ser direcionados, tanto para a produção de energia, quanto para a formação de precursores biossintéticos. O ciclo ainda inclui diversos pontos nos quais **aminoácidos desaminados** podem ser inseridos. A desaminação do ácido glutâmico, por exemplo, produz α -cetoglutarato, enquanto a desaminação do ácido aspártico gera oxaloacetato, sendo ambos intermediários do ciclo do ATC. Assim, o ciclo do ATC apresenta as seguintes funções:

- 1. É o mecanismo mais eficiente para a geração de ATP.
- 2. Atua como uma via final comum para a completa oxidação de aminoácidos, ácidos graxos e carboidratos.
- 3. Fornece intermediários-chave (i.e., α -cetoglutarato, piruvato, oxaloacetato) para a síntese de aminoácidos, lipídios, purinas e pirimidinas.

As duas últimas funções fazem com que o ciclo do ATC seja chamado de **ciclo anfibólico** (i.e., pode atuar tanto na degradação quanto na síntese de moléculas).

Respiração Anaeróbica

Durante a respiração anaeróbia, outros aceptores de elétrons terminais são usados em vez do oxigênio. O nitrato pode ser convertido em NH₄, sulfato ou enxofre molecular para H₂S, CO₂ a metano, íon férrico a íon ferroso, e fumarato e succinato. Menos ATP é produzido para cada NADH que durante a respiração aeróbia, porque o potencial de oxidação-redução é menor para essas reações. Essas reações são utilizadas por bactérias anaeróbias facultativas no trato GI e outros ambientes anaeróbicos.

Via das Pentoses Fosfato

A via final de metabolismo da glicose aqui apresentada é conhecida como via das pentoses fosfato, ou desvio de hexose monofosfato. A função dessa via é gerar precursores dos ácidos nucleicos e poder redutor na forma de nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato (forma reduzida) (NADPH) para uso na biossíntese.

Genes Bacterianos e Expressão Gênica

O genoma bacteriano é a compilação total dos genes carregados por uma bactéria, tanto em seu cromossomo quanto nos elementos genéticos extracromossômicos, se existirem. Bactérias normalmente possuem apenas uma cópia de seus cromossomos (elas são, portanto, **haploides**), enquanto eucariontes normalmente apresentam duas cópias distintas de cada cromossomo (são, portanto, **diploides**). Com apenas um cromossomo, a alteração de um gene bacteriano (mutação) terá um efeito mais notável sobre a célula. Além disso, a estrutura do cromossomo bacteriano é mantida por poliaminas, como a espermina e a espermidina, em vez de histonas.

Além de genes de proteína estrutural (cístrons, que são genes codificantes), o cromossomo bacteriano contém genes para ácido ribonucleico (RNA) ribossomal e de transferência. Os genes bacterianos são frequentemente agrupados em óperons ou ilhas (p.ex., ilhas de patogenicidade) que compartilham função ou para coordenar o seu controle. Os óperons com muitos genes estruturais são policistrônicos.

Bactérias também podem conter **elementos genéticos extracromossômicos**, como **plasmídeos** ou **bacteriófagos** (vírus bacterianos). Esses elementos são independentes do cromossomo bacteriano e, na maioria dos casos, podem ser transferidos de uma célula para outra.

Transcrição

A informação transportada na memória genética do ácido desoxirribonucleico (DNA) é transcrita em um RNA mensageiro (RNAm) para a subsequente tradução em uma proteína. A síntese de RNA é realizada por uma RNA polimerase DNA-dependente. O processo começa quando o fator sigma reconhece uma sequência específica de nucleotídeos no DNA (o promotor) e se liga fortemente a essa região. Sequências promotoras se localizam imediatamente antes do início do DNA que realmente codifica uma proteína. Fatores sigma se ligam a esses promotores para formar um ponto de acoplamento para a RNA polimerase. Algumas bactérias codificam diversos fatores sigma para coordenar a transcrição de um grupo de genes em condições especiais, como choque térmico, deprivação energética, metabolismo especial do nitrogênio ou esporulação.

Uma vez que a polimerase esteja ligada ao ponto apropriado de DNA, a síntese de RNA segue com a adição sequencial de ribonucleotídeos complementares à sequência presente no DNA. Uma vez que um gene completo ou grupo de genes (**óperon**) tenham sido transcritos, a RNA polimerase se dissocia do DNA, em um processo mediado por sinais presentes no próprio DNA. A RNA polimerase DNA-dependente bacteriana é inibida pela rifampicina, um antibótico frequentemente utilizado no tratamento da tuberculose.

Tradução

Tradução é o processo no qual a linguagem do **código genético**, na forma de RNAm, é convertida (traduzida) a uma sequência de aminoácidos, o produto proteico. Cada palavra, ou aminoácido, e a pontuação do código genético, são escritos a partir de conjuntos de três nucleotídeos conhecidos como **códons**. Existem 64 combinações diferentes de códons que codificam os 20 aminoácidos, os códons de iniciação e parada. Alguns aminoácidos são codificados por mais de um triplete. Essa característica é conhecida como a *degeneração do código genético* e pode atuar protegendo a célula dos efeitos de mutações menores no DNA ou no RNAm. Cada molécula de RNAt contém uma sequência de três nucleotídeos complementar a uma das sequências de códons. Essa sequência do RNAt é conhecida como **anticódon**; isso permite o pareamento das bases e a ligação ao códon no RNAm. Acoplado à extremidade oposta do RNAt está o aminoácido que corresponde ao par códon-anticódon específico.

A síntese proteica bacteriana (Fig. 13-3) começa com a ligação da subunidade 30S ribossomal e um RNAt iniciador especial para formil-metionina (fMet) em um códon de metionina (AUG), ou códon iniciador, para formar o complexo de iniciação. A subunidade 50S ribossomal se liga ao complexo para iniciar a síntese de RNAm. O ribossomo contém dois pontos de ligação para RNAt, o ponto A (aminoacil) e o ponto P (peptidil), cada um dos quais permite o pareamento das bases entre o RNAt acoplado e o códon presente no RNAm. O RNAt correspondente ao segundo códon ocupa o ponto A. O grupamento amino do aminoácido ligado ao ponto A forma uma ligação peptídica com o grupo carboxílico do aminoácido no ponto P em uma reação conhecida como transpeptidação, e o RNAt vazio no ponto P (RNAt descarregado) é liberado do ribossomo. O ribossomo então se move pelo RNAm exatamente três nucleotídeos adiante e, dessa maneira, transfere o RNAt ligado ao peptídeo nascente para o ponto P e traz o próximo códon para o ponto A. O RNAt carregado adequado é trazido ao ponto A, e o processo se repete. A tradução continua até que o novo códon no ponto A seja um dos três códons de parada, para o qual não há um RNAt correspondente. Neste ponto, a nova proteína é liberada para o citoplasma e o complexo de tradução pode ser desfeito, ou o ribossomo se transfere para o próximo códon de iniciação e começa uma nova proteína. A capacidade de se mover ao longo do RNAm para iniciar uma nova proteína é característica do ribossomo 70S bacteriano, mas não do 80S eucariótico. A restrição eucariótica tem implicações para a síntese de proteínas de alguns vírus.

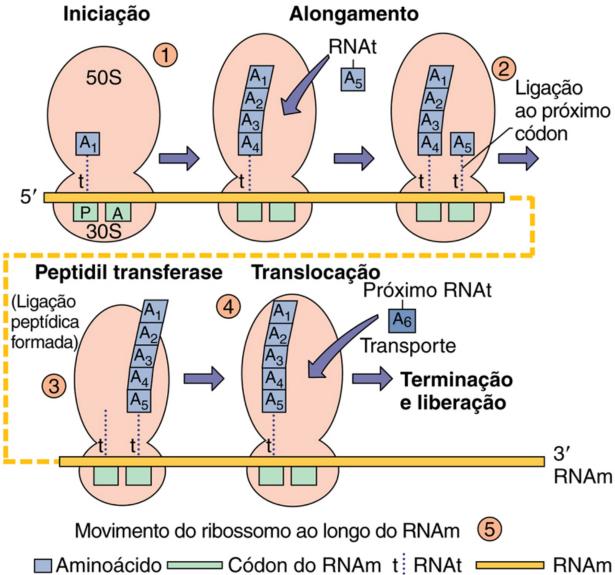


FIGURA 13-3 Síntese proteica em bactérias. *1*, A ligação da subunidade 3^oS do ribossomo ao RNA mensageiro (*RNAm*) com um RNA transportador de formil metionina (fMet-RNAt) no códon iniciador AUG permite a junção da subunidade 70S do ribossomo. O fMet-RNAt se liga ao ponto peptídico (*P*). *2*, O próximo *RNAt* se liga ao seu códon no ponto *A* e "aceita" a cadeia peptídica crescente. *3* e *4*, Antes da translocação ao ponto peptídico. *5*, O processo se repete até chegar a um códon de parada e então a proteína é liberada.

O processo de síntese proteica pelo ribossomo 70S representa um importante alvo de ação antimicrobiana. Os aminoglicosídeos (p.ex., estreptomicina e gentamicina) e as tetraciclinas atuam por meio de sua ligação à subunidade ribossomal menor e da inibição da função normal do ribossomo. De maneira similar, os grupos de antibióticos macrolídeos (p.ex., eritromicina) e lincosamidas (p.ex., clindamicina) atuam pela ligação à subunidade ribossomal maior. Além disso, os peptídeos de formil-metionina (p.ex., fMet-Leu-Phe) são únicos para as bactérias, são quimiotáticos, e atraem neutrófilos para o local de uma infecção.

Controle da Expressão Gênica

As bactérias desenvolveram mecanismos que permitem com que elas se adaptem rápida e eficientemente às mudanças do ambiente. Isso lhes permite coordenar e regular a expressão de genes de estruturas multicomponentes ou as enzimas de uma ou mais vias metabólicas. Mudanças de temperatura, por exemplo, podem significar a entrada do micro-organismo em um hospedeiro e indicar a necessidade de uma mudança global no metabolismo e a ativação de genes importantes para o parasitismo e a virulência. Muitos genes bacterianos são controlados em diversos níveis, por múltiplos métodos.

Os promotores e operadores são sequências de DNA no início de um gene ou óperon, que são reconhecidos por fatores sigma, proteínas ativadoras e repressoras que controlam a expressão de um gene ou um óperon. Assim, todos os genes que codificam para as enzimas de uma via particular podem ser coordenadamente regulados.

A coordenação a nível global de um grande número de processos também pode ser mediada por pequenas moléculas ativadoras, como o monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). Elevados níveis de AMPc indicam baixos níveis de glicosee a necessidade de se utilizar rotas metabólicas alternativas. Do mesmo modo, num processo chamado de *quorum sensing*, cada bactéria produz uma molécula pequena específica e, quando um número suficiente de bactérias está presente, a concentração da molécula será suficiente para coordenar a expressão de genes para apoiar a colônia, em vez da bactéria

individual. A formação de biofilme em *Pseudomonas* spp. é desencadeada por uma concentração crítica de *N*-acilhomoserinalactona (AHL), a qual é produzida quando um número suficiente de bactérias (*quorum*) está presente. A ativação de biofilme, da produção de toxinas e de outro comportamento mais virulento de *Staphylococcus aureus* acompanha o aumento da concentração de um peptídeo cíclico.

Os genes para alguns mecanismos de virulência estão organizados em **ilhas de patogenicidade** sob o controle de um único promotor para coordenar sua expressão e assegurar que todas as proteínas necessárias para uma estrutura ou processo sejam produzidas quando necessário. Os diversos componentes do dispositivo de secreção do tipo III de *E. coli, Salmonella* ou *Yersinia* são agrupados juntos em ilhas de patogenicidade.

A transcrição também pode ser regulada pelo processo de tradução. Ao contrário dos eucariontes, a ausência de uma membrana nuclear em procariontes permite que o ribossomo se ligue ao RNAm conforme ele é transcrito a partir do DNA. A posição e velocidade de movimento do ribossoma ao longo do mRNA pode determinar se vão ser formados *loops* no mRNA, influenciando a capacidade da polimerase para continuar a transcrição de novo mRNA. Isto favorece o controle da expressão gênica tanto no nível transcricional quanto traducional.

A iniciação da transcrição pode estar sob controle positivo ou negativo. Genes sob **controle negativo** são expressos, a menos que sejam desligados por uma **proteína repressora**. Essa proteína repressora previne a expressão gênica ligando-se a uma sequência específica de DNA no interior do **operador**, impedindo que a RNA polimerase inicie a transcrição na sequência promotora. De maneira inversa, genes cuja expressão está sob **controle positivo** não são transcritos, a menos que uma proteína reguladora ativa, denominada **apoindutor**, esteja presente. O apoindutor se liga a uma região de sequência específica de DNA e auxilia a RNA polimerase nas etapas de iniciação em um mecanismo ainda desconhecido.

Óperons podem ser induzíveis ou reprimíveis. A introdução de um substrato (**indutor**) em um meio de cultura pode induzir um óperon a aumentar a expressão das enzimas necessárias para o seu metabolismo. Uma abundância dos produtos finais (**correpressores**) de uma rota pode sinalizar que essa via deve ser desligada ou reprimida pela redução da síntese de suas enzimas.

O óperon *lac* da *E. coli* inclui todos os genes necessários para o metabolismo da lactose, bem como os mecanismos de controle para desligar (na presença da glicose) ou ligar (na presença de galactose ou um indutor) esses genes apenas quando eles estão necessários. O óperon *lac* inclui uma sequência repressora, uma sequência promotora e genes estruturais para a enzima β-galactosidase, uma permease e uma acetilase (Fig. 13-4).

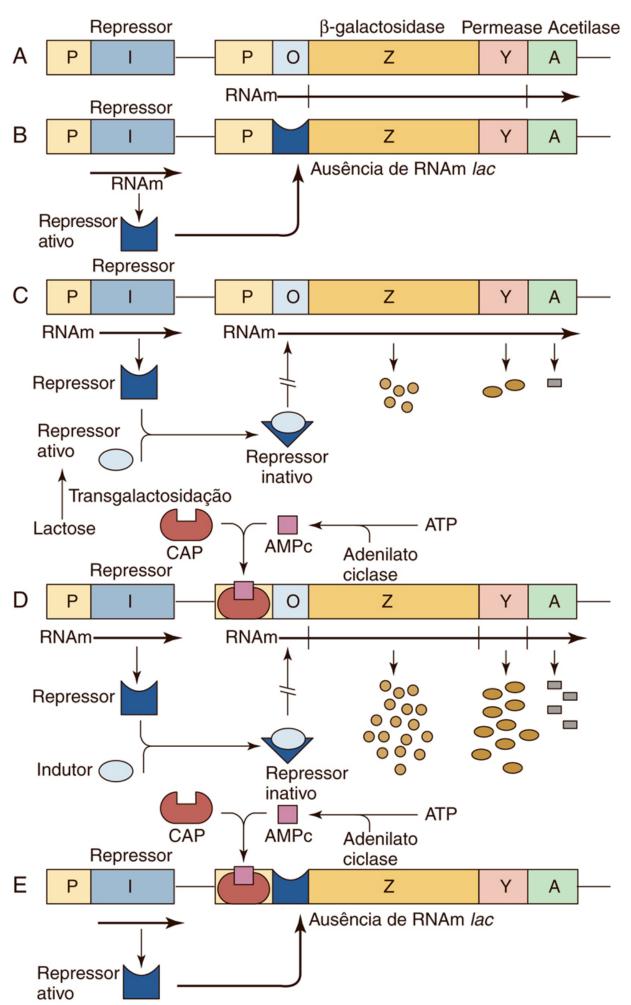
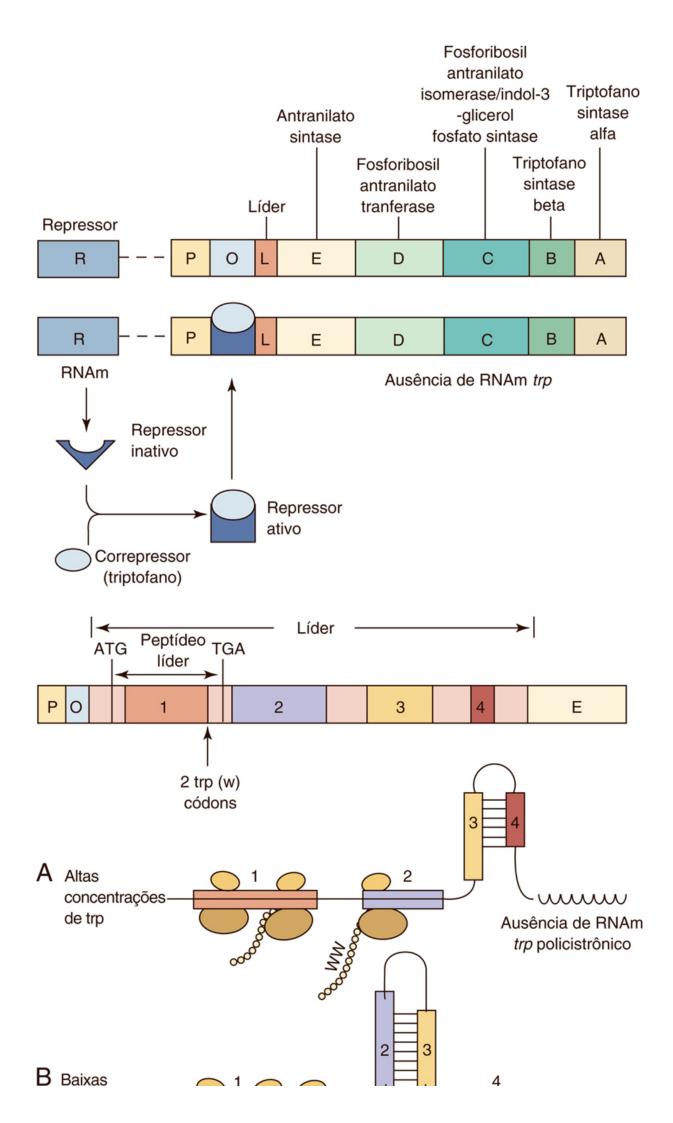


FIGURA 13-4 A, O óperon lactose (*lac*) é transcrito como um RNA mensageiro (*RNAm*) policistrônico a partir do promotor (*P*) e traduzido em três proteínas: β-galactosidase (*Z*), permease (*Y*), e acetilase (*A*). O gene (*I*) codifica a proteína repressora. B, O óperon lactose não é transcrito na ausência de um indutor alostérico (a lactose), porque o repressor compete com a RNA polimerase pelo ponto operador (*O*). C, O repressor,

complexado com o indutor, não reconhece o operador devido a uma mudança de conformação no repressor. O óperon *lac* é então transcrito em baixos níveis. **D**,*Escherichia coli* é posta para crescer em um meio pobre na presença de lactose como fonte de carbono. Tanto o indutor quanto o complexo CAP-AMPc estão ligados ao promotor, que é completamente ativado, e um alto nível de RNAm *lac* é transcrito e traduzido. **E**, O crescimento de *E. coli* em um meio pobre em lactose resulta na ligação do complexo CAP-AMPc à região promotora, e na ligação do repressor ativo à sequência do operador porque não existe um indutor disponível. O resultado é a não transcrição do óperon *lac*. *ATP*, trifosfato de adenosina; *AMPc*, monofosfato de adenosina cíclico; *CAP*, proteína ativadora de gene catabólico.

Normalmente, as bactérias utilizam glicose e não lactose. Na ausência de lactose, o óperon é reprimido pela ligação da proteína repressora, impedindo a atividade da RNA polimerase. Na ausência de glicose, no entanto, a adição de lactose reverte essa repressão. Para a expressão completa do óperon *lac* também é necessário um mecanismo de controle positivo mediado por uma proteína. Em *E. coli*, quando há diminuição de glicose na célula, o AMPc aumenta para promover o uso de outros açúcares para o metabolismo. A ligação do AMPc a uma proteína chamada **proteína ativadora de gene catabólito (CAP, do inglês,** *catabolite gene-activator protein***) permite que se ligue à sequência específica de DNA presente no promotor. O complexo CAP-AMPc aumenta a ligação da RNA polimerase ao promotor, permitindo um aumento na frequência de iniciação da transcrição.**

O óperon triptofano (**óperon** *trp*) contém os genes estruturais necessários para a biossíntese do triptofano e está sob dois mecanismos de controle transcricional (Fig. 13-5). Embora o triptofano seja essencial para a síntese proteica, elevados níveis desse aminoácido na célula podem ser tóxicos; assim, sua síntese deve ser regulada. Ao nível do DNA, uma proteína supressora é ativada por um aumento da concentração de triptofano para prevenir a transcrição. Ao nível da síntese proteica, uma rápida tradução de um "peptídeo-teste" no início do RNAm em função da presença do triptofano permite a formação de uma alça de dupla-fita no RNA, o qual encerra a transcrição. A mesma alça é formada se não há síntese proteica, situação em que a síntese do triptofano também não seria necessária. Isto regula a síntese do triptofano ao nível do RNAm em um processo chamado **atenuação**, no qual a síntese de RNAm é encerrada prematuramente.



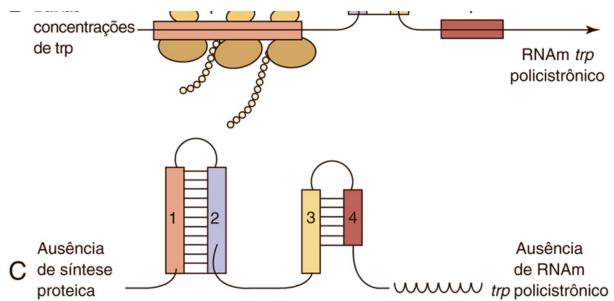
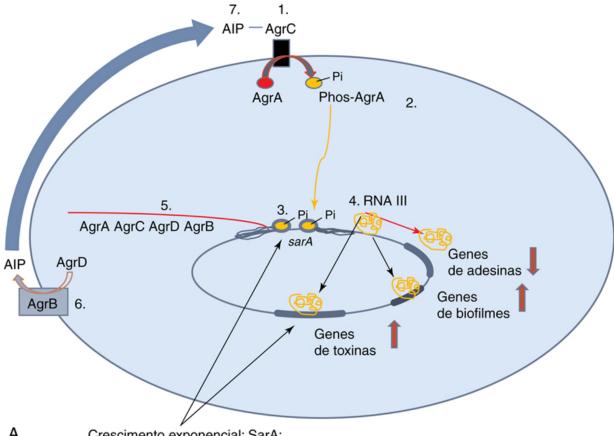
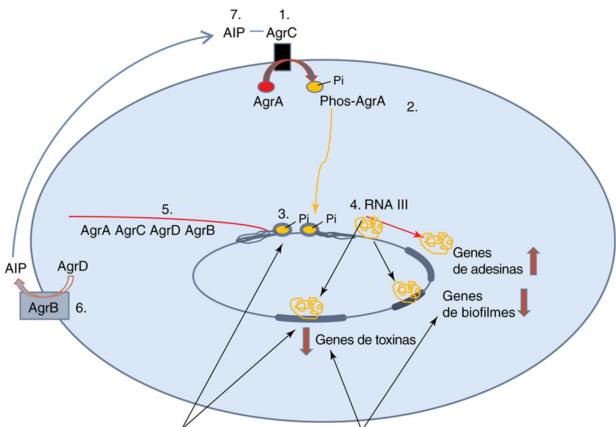


FIGURA 13-5 Regulação do óperon triptofano (*trp*). **A**, O óperon *trp* codifica cinco enzimas necessárias para a biossíntese do triptofano. Esse óperon *trp* está sob duplo controle. **B**, A conformação da proteína repressora é modificada depois da sua ligação ao correpressor triptofano. O repressor ativo resultante (*R*) se liga ao operador (*O*), bloqueando qualquer transcrição do RNAm *trp* pela RNA polimerase. **C**, O óperon *trp* também está sob controle de um mecanismo de atenuação-antiterminação. A montante dos genes estruturais estão o promotor (*P*), o operador, e o líder (*L*), que podem ser transcritos em um peptídeo curto contendo dois triptofanos (*W*), perto de sua extremidade distal. O RNAm líder possui quatro repetições (1, 2, 3, e 4), que podem se parear diferentemente de acordo com a disponibilidade de triptofano, levando a uma terminação prematura da transcrição do óperon *trp* ou então à sua transcrição completa. Na presença de altas concentrações de triptofano, as regiões 3 e 4 do RNAm líder podem se parear, formando um grampo de terminação, e impedindo que ocorra a transcrição do óperon *trp*. No entanto, na presença de pouco ou nenhum triptofano, os ribossomos param na região 1 da tradução do peptídeo líder por causa do *tandem* de códons de triptofano. As regiões 2 e 3, então, podem se parear, formando o grampo antiterminação e levando à transcrição dos genes do óperon *trp*. Por fim, as regiões 1:2 e 3:4 do RNAm líder livre podem se parear, também causando a cessação da transcrição antes do primeiro gene estrutural *trpE*. *A*, Adenina; *G*, guanina; *T*, timidina.

A expressão dos componentes dos mecanismos de virulência também é coordenadamente regulada por um óperon. Estímulos simples (p.ex., temperatura, osmolaridade, pH, disponibilidade nutricional), ou a concentração de moléculas específicas (p.ex., oxigênio e ferro), podem ativar ou desativar a transcrição de um único gene ou um conjunto deles. Genes de invasão da *Salmonella* presentes em uma ilha de patogenicidade são ativados por altas osmolaridades e baixos níveis de oxigênio, condições presentes no trato GI ou em uma vesícula endossômica de um macrófago. *E. coli* percebe sua saída do intestino de um hospedeiro pela diminuição da temperatura e inativa seus genes de aderência. Baixos níveis de ferro podem ativar a expressão de hemolisina em *E. coli* ou da toxina diftérica de *Corynebacterium diphtheriae*, potencialmente capazes de matar células e disponibilizar ferro. O *quorum sensing* para os fatores de virulência e para a produção de biofilme por *S. aureus* e *Pseudomonas* spp. foi discutido anteriormente. Um exemplo de controle coordenado dos genes de virulência de *S. aureus* é baseado na sua taxa de crescimento, disponibilidade de metabólitos e a presença de um *quorum* é representada na Figura 13-6.



A Crescimento exponencial: SarA: permite a expressão de genes de virulência



B Ausência de crescimento: ausência de SarA: Risco: σ^B: alterações na sobrevivência redução na expressão de genes de virulência e reparo

FIGURA 13-6 Controle de genes de virulência em *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* muda seus fatores de virulência quando em crescimento exponencial e quando seus números chegam a um determinado ponto. Toxinas e proteases são produzidas para matar as células de hospedeiros e fornecer alimento para a colônia, que então produz um biofilme para sua proteção. A espessura da parede celular e os fatores de adesão se tornam menos importantes dentro da colônia e são reprimidos. *Quorum sensing* é mediado e autoinduzido pelas proteínas Agr (A-D). A, 1. O peptídeo autoindutor (AIP) se liga ao AgrC. *2,* AgrC é um receptor que fosforila AgrA. *3,* AgrA Fosforilada ativa o promotor do óperon *agr* e o promotor para um RNA regulatório

chamado **RNA III.** 4, RNA III contém a sequência de 26 aminoácidos do RNA da δ-hemolisina. Além disso, RNA III ativa toxinas e outros genes de virulência e diminui a expressão de genes de adesão e de síntese da parede celular. 5, **AgrD** interage com **AgrB**, na membrana, para se converter em AIP. Enquanto as bactérias estão em fase de crescimento exponencial, elas produzem **SarA**, que também se liga e ativa os promotores para os genes de *agr* e *RNAIII*. **B**, Sob problemas metabólicos ou situações de perigo, a produção de SarA é reduzida e um novo fator sigma, σ^B, é produzido para reduzir a produção desses fatores de virulência e ativar os mecanismos de reparo celular e do DNA. *Setas vermelhas grandes* indicam aumento ou redução da expressão.

Replicação do DNA

A replicação do genoma bacteriano é desencadeada por uma cascata de eventos ligada à taxa de crescimento das células. A replicação do DNA bacteriano é iniciada em uma sequência específica do cromossomo chamada *ori*C. O processo de replicação necessita de uma série de enzimas, incluindo uma (**helicase**) capaz de desenrolar o DNA na origem de replicação e expor o mesmo; outra (**primase**) para sintetizar iniciadores necessários para o começo do processo; e a enzima ou as enzimas (**DNA polimerases DNA-dependentes**) que sintetizam a cópia do DNA, desde que haja uma sequência iniciadora a qual seja possível adicionar nucleotídeos e apenas na direção 5′ a 3′.

O novo DNA é sintetizado de forma semiconservativa, utilizando-se ambas as fitas do DNA parental como moldes. A síntese do novo DNA acontece em forquilhas de replicação e se desenvolve bidirecionalmente. Uma fita (a fita líder) é copiada continuamente na direção 5′ a 3′, enquanto a outra fita (fita tardia) deve ser sintetizada na forma de diversas porções de DNA utilizando vários iniciadores de RNA (fragmentos de Okazaki). A fita tardia deve ser estendida na direção 5′ a 3′ conforme seu molde vai se tornando disponível. As peças então são conectadas pela enzima DNA ligase (Fig. 13-7). Para manter o elevado grau de exatidão exigido pela replicação, a DNA polimerase possui funções de revisão, as quais permitem à enzima confirmar que o nucleotídeo adequado foi adicionado e corrigir quaisquer erros que tenham sido cometidos. Durante a fase log de crescimento em um meio de cultura rico, diversas iniciações da replicação cromossômica podem ocorrer antes da divisão celular. Esse processo gera uma série de novelos (nested bubbles) dos novos cromossomosfilhos, cada um com seu par de forquilhas de replicação. A polimerase se move ao longo da fita de DNA, incorporando o nucleotídeo apropriado (complementar) em cada posição. A replicação é completada quando as duas forquilhas de replicação se encontram a 180° da origem. O processo de replicação do DNA cria grande tensão de torção no cromossomo circular de DNA; essa tensão é aliviada pelas topoisomerases (p.ex., girase), que superenovelam o DNA. As topoisomerases são essenciais para as bactérias e são o alvo dos antibióticos da classe das fluoroquinolonas.

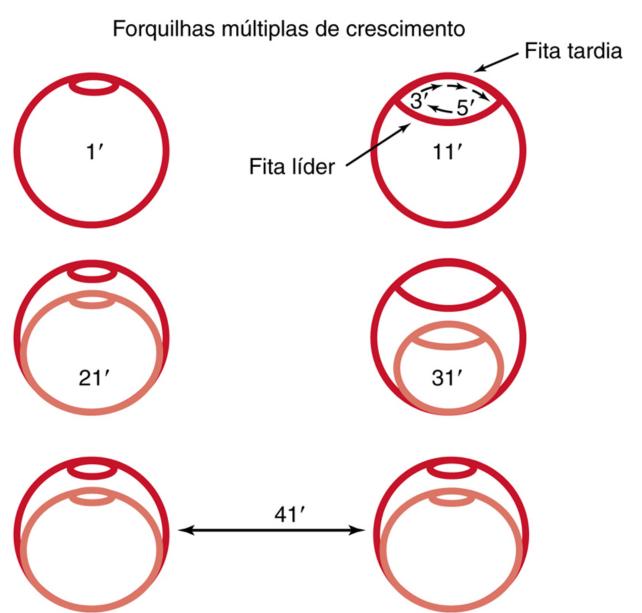


FIGURA 13-7 Replicação do DNA bacteriano. Síntese do novo DNA ocorre nas forquilhas de replicação e procede bidirecionalmente. Síntese de DNA progride na direção 5' a 3' continuamente (fita líder) ou por partes (fita tardia). Partindo-se do princípio de que completar um ciclo de replicação leva 40 minutos, e de que ocorre uma iniciação nova a cada 20 minutos, o início da síntese de DNA precede a divisão celular. Múltiplas forquilhas de replicação podem ser iniciadas em uma célula antes da formação completa do septo e da divisão celular. As células-filhas "nascem grávidas".

Crescimento Bacteriano

A replicação bacteriana é um processo coordenado no qual duas células-filhas equivalentes são geradas. Para que o crescimento ocorra, devem existir metabólitos suficientes para suprir a síntese dos componentes bacterianos e, especialmente, dos nucleotídeos para a síntese de DNA. Uma cascata de eventos regulatórios (síntese de proteínas-chave e RNA), semelhantes a uma contagem regressiva, deve ocorrer em momentos específicos para iniciar o ciclo de replicação. No entanto, uma vez que seja iniciada, a síntese de DNA deve seguir até o final mesmo que todos os nutrientes tenham sido retirados do meio.

A replicação do cromossomo se inicia na membrana celular, e cada cromossomo-filho é ancorado em porções distintas da membrana. A membrana bacteriana, a síntese de peptidoglicano e a divisão celular estão conectados de tal forma que a inibição da síntese de peptidoglicano provoca a parada da divisão celular. Conforme a membrana bacteriana cresce, os cromossomos-filhos vão se separando. O início da replicação do cromossomo também inicia o processo de divisão celular, que pode ser visualizado pelo início da formação de um septo entre as células-filhas (Fig. 13-8; veja também o Cap. 12). Novos eventos de iniciação podem ocorrer mesmo antes da finalização da replicação cromossômica e da divisão celular.

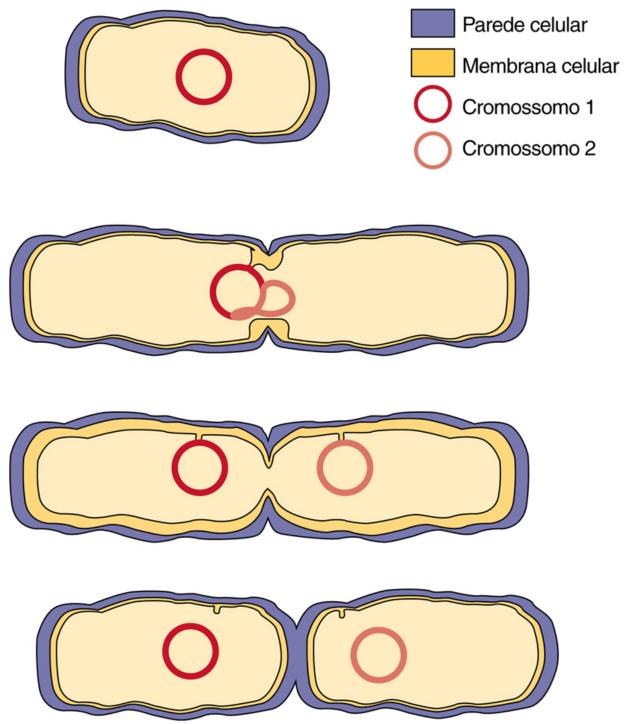


FIGURA 13-8 Divisão celular bacteriana. A replicação requer extensão da parede celular, replicação do cromossomo e formação do septo. A ligação do DNA à membrana puxa cada fita-filha para uma nova célula.

A depleção de metabólitos ou o aumento da formação de subprodutos tóxicos (p.ex., etanol) desencadeiam a formação de **alarmonas**, que causam a interrupção da síntese de proteínas e outras sínteses, mas as reações de degradação continuam. A síntese de DNA continua até que todos os cromossomos iniciados estejam completos, apesar dos efeitos deletérios na célula. Ribossomos são "canibalizados" em busca de precursores de desoxirribonucleotídeos, peptidoglicano e proteínas são degradados para fornecer metabólitos, e a célula encolhe. A formação de septo pode ser iniciada, mas a divisão celular não ocorre. Muitas células morrem. Sinais semelhantes podem causar o início da **esporulação** em espécies capazes de realizar esse processo (Cap. 12). Para algumas espécies bacterianas, a ausência de alimentos promove a captação de DNA estranho (transformação) que pode codificar meios para sobreviver ao desafio.

Dinâmica Populacional

Quando bactérias são adicionadas a um novo meio, elas necessitam de um tempo para se adaptar ao novo ambiente antes de começarem a se dividir (Fig. 13-9). Esse hiato é conhecido como **fase** lag de crescimento. Durante a **fase logarítmica (log) ou exponencial**, as bactérias crescem e se dividem com um **tempo de duplicação** característico da cepa e determinado pelas condições do meio. O número de bactérias crescerá a 2^n , em que n é o número de gerações (duplicações). Em um determinado momento, a cultura encontra-se sem metabólitos, ou uma substância tóxica aumenta sua concentração no

meio; as bactérias param de crescer e entram na fase estacionária, seguida da fase de morte. Durante a fase de morte, algumas bactérias param de se dividir, mas permanecem viáveis e são muitas vezes insensíveis aos antibióticos.

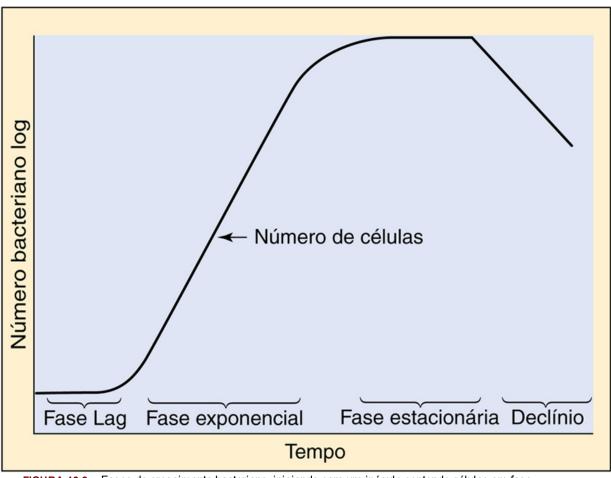


FIGURA 13-9 Fases do crescimento bacteriano, iniciando com um inóculo contendo células em fase estacionária.

Genética Bacteriana

Mutação, Reparo e Recombinação

Uma replicação exata do DNA é importante para a sobrevivência das bactérias, mas erros e danos acidentais ao DNA acontecem. As bactérias possuem eficientes sistemas de reparo do DNA, mas mutações e alterações no DNA ainda ocorrem. A maioria dessas mutações tem pouco efeito sobre a bactéria ou é deletéria, mas algumas mutações podem acarretar uma vantagem seletiva para a sobrevivência da bactéria quando desafiada pelo ambiente, pelo hospedeiro ou pela terapia antibiótica.

Mutações e Suas Consequências

Uma mutação é qualquer alteração na sequência de bases do DNA. Uma simples mudança de base pode resultar em uma transição, na qual uma purina é substituída por outra purina, ou uma pirimidina é trocada por outra pirimidina. Uma transversão, na qual, por exemplo, uma pirimidina é substituída por uma purina e vice-versa, também pode ocorrer. Uma mutação silenciosa é uma modificação ao nível do DNA que não resulta em qualquer mudança de aminoácido na proteína codificada. Esse tipo de mutação ocorre porque mais de um códon pode codificar um mesmo aminoácido. Uma mutação missense resulta na inserção de um aminoácido diferente na proteína, mas esta pode ser uma mutação conservativa se o novo aminoácido apresentar propriedades semelhantes (p.ex., valina substituindo alanina). Uma mutação nonsense modifica um códon que codifica um aminoácido para um códon de parada (p.ex., TAG [timidina-adenina-guanina]), o que causará o desligamento do ribossomo do RNAm e o término prematuro da proteína. Mutações condicionais, como as mutações sensíveis à temperatura, podem ser resultado de uma mutação conservativa, que modifica a estrutura ou função de uma proteína importante em temperaturas elevadas.

Mudanças mais drásticas podem ocorrer quando diversas bases estão envolvidas. Uma pequena deleção ou inserção que *não seja múltipla de três* produz uma **mutação** *frameshift*. Isso resulta em uma mudança na matriz de leitura, normalmente levando a um peptídeo sem função e ao truncamento prematuro da proteína. **Mutações nulas**, as quais destroem completamente a função de um gene, surgem quando há uma extensa inserção ou deleção, ou um grande

rearranjo da estrutura do cromossomo. Inserções de longas sequências de DNA (milhares de pares de bases) por recombinação, permutação ou engenharia genética podem gerar mutações nulas por separar as partes de um gene e inativálo.

Muitas mutações ocorrem espontaneamente na natureza (p.ex., por erros da polimerase); no entanto, agentes físicos equímicos também podem induzir mutações. Entre os agentes físicos utilizados para induzir mutações em bactérias estão o calor, que resulta na desaminação de nucleotídeos; a luz ultravioleta, que causa a formação de dímeros de pirimidinas; e a radiação ionizante, como os raios X, que produz radicais hidroxila muito reativos, os quais podem ser responsáveis pela abertura do anel de uma base ou causar quebras em fita simples ou em dupla-fita do DNA.

Mutágenos químicos podem ser agrupados em três classes. **Análogos de bases de nucleotídeos** causam pareamentos errôneos e, frequentemente, erros na replicação do DNA. Por exemplo, a incorporação de 5-bromouracil em vez de timidina no DNA permite o pareamento com guanina em vez de adenina, trocando um par de bases T-A por um G-C. **Mutágenos** *frameshift*, como moléculas policíclicas planas como brometo de etídio ou derivados da acridina, inserem-se (ou intercalam-se) entre as bases conforme elas se pareiam umas às outras na dupla-hélice. O aumento do espaçamento de sucessivos pares de bases causa a adição ou deleção de uma única base e leva a erros frequentes durante a replicação. **Compostos químicos que reagem com o DNA** atuam diretamente neste para mudar a estrutura química da base. Eles incluem o ácido nitroso (HNO₂) e agentes alquilantes, como nitrosoguanidina e etil-metano-sulfonato, que são conhecidos por adicionar radicais metil e etil aos anéis das bases do DNA. As bases modificadas podem se parear de forma anormal, ou nem se parear. O dano também pode causar a remoção da base do alicerce do DNA.

Mecanismos de Reparo do DNA

Alguns mecanismos de reparo se desenvolveram nas bactérias. Esses mecanismos podem ser divididos nos cinco grupos a seguir:

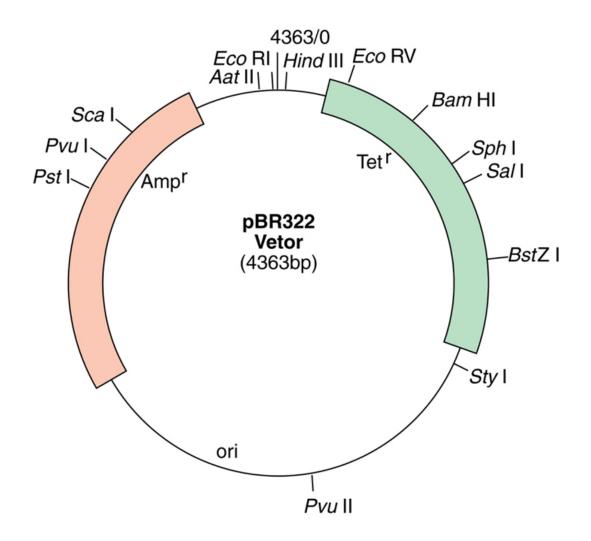
- 1. Reparo direto ao DNA é a remoção enzimática do dano, como dímero de pirimidina ou bases alquiladas.
- 2. **Reparo por excisão** é a remoção do segmento de DNA contendo o dano, seguida da síntese de uma nova fita de DNA. Existem dois tipos de mecanismos de reparo por excisão de bases, um generalizado e um especializado.
- 3. **Reparação recombinante** ou **pós-replicação** substitui uma seção em falta ou danificada de DNA pela mesma sequência ou por sequências semelhantes, que podem estar presentes durante a replicação ou em DNA extracromossômico.
- 4. A **resposta SOS** é a indução de diversos genes (≈15) após o dano ao DNA ou interrupção da sua replicação para promover a recombinação ou o reparo sujeito a erros.
- 5. **Reparo sujeito a erros** é o último recurso da célula bacteriana antes da sua morte. Ele é utilizado para preencher lacunas com uma sequência aleatória quando o molde de DNA não está disponível para direcionar um reparo mais exato.

Intercâmbio Gênico em Células Procarióticas

Diversas bactérias, principalmente espécies bacterianas patogênicas, são promíscuas com seu DNA. A troca de DNA entre as células permite o intercâmbio de genes e características entre elas, produzindo assim novas cepas bacterianas. Esse intercâmbio pode ser vantajoso para a célula receptora, principalmente se o DNA trocado codifica proteínas causadoras de resistência antimicrobiana. O DNA transferido pode ser integrado ao cromossomo do receptor ou ser mantido de forma estável como um elemento extracromossômico (**plasmídeo**) ou vírus bacteriano (**bacteriófago**) e ser passado às bactérias-filhas como uma unidade autônoma de replicação.

Plasmídeos são pequenos elementos genéticos que se replicam independentemente do cromossomo bacteriano. Muitos plasmídeos são moléculas de DNA de dupla-fita circulares que variam entre 1.500 e 400.000 pares de bases. No entanto, a *Borrelia burgdorferi*, o agente causador da doença de Lyme, e a *Borrelia hermsii* são únicas entre as eubactérias por possuírem plasmídeos e genomas lineares. Assim como o DNA cromossômico bacteriano, os plasmídeos podem se replicar de maneira autônoma e, por isso, são denominados **replicons**. Alguns plasmídeos, como o F da *E. coli*, são **epissomas**, o que significa que são capazes de se integrar ao DNA cromossômico do hospedeiro.

Os plasmídeos transportam informações genéticas que podem não ser essenciais, mas que criam uma vantagem seletiva para as bactérias. Por exemplo, plasmídeos podem codificar a produção de mecanismos de resistência a antibióticos, bacteriocinas, toxinas, determinantes de virulência e outros genes que podem fornecer às bactérias vantagens únicas de crescimento em relação a outros micro-organismos ou ao hospedeiro (Fig. 13-10). O número de cópias do plasmídeo produzidas pelas células é determinado pelo próprio plasmídeo. O número de cópias é a relação entre as cópias do plasmídeo e o número de cópias do cromossomo. Ele pode variar de tão poucos quanto um, no casode plasmídeos grandes, ou tantos como 50, para plasmídeos pequenos.



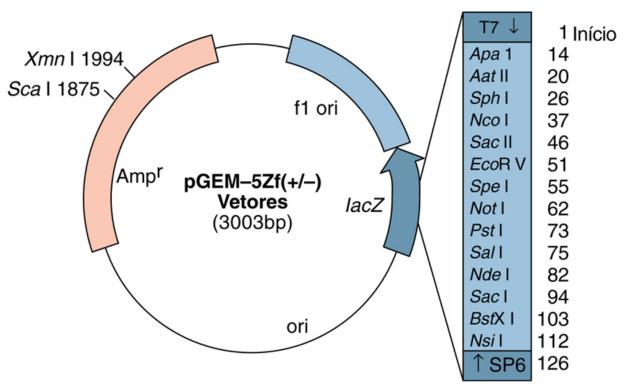


FIGURA 13-10 Plasmídeos. O plasmídeo pBR322 é um dos plasmídeos utilizados para clonagem de DNA. Esse plasmídeo codifica a resistência à ampicilina (*Amp*) e tetraciclina (*Tet*) e uma origem de replicação (*ori*). Os pontos múltiplos de clonagem no plasmídeo pGEM-5Zf (+/ –) fornecem diferentes pontos de clivagem de enzimas de restrição para a inserção de DNA dentro do gene da β-galactosidase (*lacZ*). A inserção é flanqueada por promotores de bacteriófago para permitir expressão direcional do RNA mensageiro da sequência clonada.

Plasmídeos grandes (20 a 120 kb), como o **fator de fertilidade F** encontrado em *E. coli* ou o fator de transferência de resistência (80 kb), podem mediar sua própria transferência de uma célula para outra por um processo chamado **conjugação** (veja a seção sobre conjugação posteriormente neste capítulo). Esses plasmídeos conjugáveis codificam todos os fatores necessários para sua transferência. Outros plasmídeos podem ser transferidos para outra célula bacteriana por outros meios que não a conjugação, como a transformação e a transdução. Esses termos também serão discutidos mais tarde no capítulo.

Bacteriófagos são vírus bacterianos contendo genoma de DNA ou RNA normalmente protegidos por uma membrana ou um invólucro proteico. Esses elementos genéticos extracromossômicos podem sobreviver fora de uma célula hospedeira e ser transmitidos de uma célula para outra. Bacteriófagos infectam uma célula bacteriana e, ou se replicam em grandes quantidades, causando a lise celular (**infecção lítica**), ou, em alguns casos, se **integram** ao genoma hospedeiro sem matar o hospedeiro (**estado lisogênico**), como o bacteriófago lambda de *E. coli*. Alguns bacteriófagos lisogênicos podem carregar genes de toxinas (p.ex., o corineófago beta carrega o gene para a toxina diftérica). O bacteriófago lambda permanece lisogênico enquanto uma proteína supressora é sintetizada e previne que o genoma do fago se desassocie para replicar e sair da célula. Danos ao DNA da célula hospedeira causados por radiação, ou outros agentes, ou incapacidade de produção da proteína supressora, são um sinal de que a célula hospedeira não está mais saudável e deixou de ser um bom lugar para "parasitar".

Transpósons (genes saltadores) são elementos genéticos móveis (Fig. 13-11) que podem transferir DNA dentro de uma célula, tanto de uma posição para outra no genoma, quanto entre diferentes moléculas de DNA (p.ex., de um plasmídeo para outro ou do plasmídeo para o cromossomo). Transpósons estão presentes tanto em procariontes quanto em eucariontes. Os transpósons mais simples são chamados de *sequências de inserção*, e seu comprimento varia de 150 a 1.500 pares de bases, com repetições invertidas de 15 a 40 pares de bases em suas extremidades e apenas a mínima informação necessária para a sua própria transferência (i.e., o gene codificante para uma transposase). Transpósons complexos podem carregar outros genes, como aqueles que originam resistência contra antibióticos. Algumas vezes os transpósons se inserem no meio de um gene, inativando-o. Se a inserção e inativação acontecerem em um gene que codifica uma proteína essencial, a célula morre.

A Sequências de inserção ABCDEF F' E'D'C' B' A' tnp Transpósons compostos Região Central: R a antibiótico ou Toxina SI direita esquerda SI Região Central: R a antibiótico ou Toxina SI direita esquerda Família TnA tnpR tnpAβ-lactamase Ponto Res Bacteriófago Mu DNA DNA Segmento G de E. coli de E. coli de inversão Genes para cabeça e cauda cab Sequência invertida Sequência invertida

FIGURA 13-11 Transpósons. **A**, As sequências de inserção codificam somente uma transposase (*tnp*) e possuem repetições inversas (15 a 40 pares de bases) em cada extremidade. **B**, Os transpósons compostos contêm uma região central para codificar resistência a antibióticos ou toxinas flanqueadas por duas sequências de inserção (*IS*), que podem ser diretamente repetidas ou revertidas. **C**, Tn3, um membro da família dos transpósons TnA. A região central codifica três genes — uma transposase (*tnpA*), uma resolvase (*tnpR*), e uma β-lactamase — conferindo resistência à ampicilina. Um ponto de resolução (ponto Res) é usado durante o processo replicativo do transpóson. Essa região central é flanqueada em ambas as extremidades por repetições diretas de 38 pares de bases. **D**, Transpóson fago-associado é exemplificado pelo bacteriófago mu.

esquerda

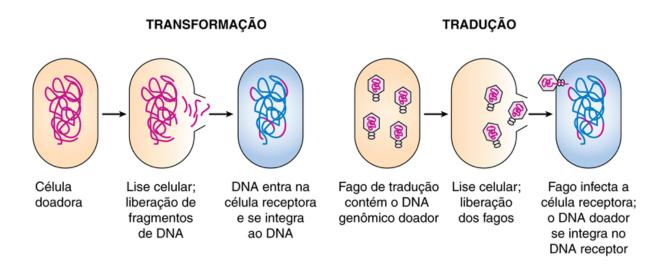
direita

Algumas bactérias patogênicas utilizam um mecanismo semelhante ao transpóson para coordenar a expressão de um sistema de fatores de virulência. Os genes para essa atividade podem ser agrupados em uma **ilha de patogenicidade ou virulência**, circundada por elementos móveis semelhantes ao transpóson, permitindo que eles se movam pelo cromossomo e para outras bactérias. A unidade genética completa pode ser acionada por estímulos ambientais (p.ex., pH, calor, contato com a superfície da célula hospedeira) como uma forma de coordenar a expressão de um processo complexo. Por exemplo, a ilha SPI-1 da *Salmonella* é ativada por sinais ambientais (p.ex., pH) para expressar os 25 genes para um dispositivo de secreção de tipo III, que permite a entrada das bactérias nas células não fagocíticas.

Mecanismos de Transferência Genética entre Células

O intercâmbio de material genético entre células bacterianas pode ocorrer por um desses três mecanismos (Fig. 13-12): (1) transformação, que é uma absorção ativa e incorporação de DNA exógeno ou estrangeiro; (2) conjugação, que é o acasalamento ou troca "quase-sexual" de informação genética de uma bactéria (o doador) para outra (o receptor); ou (3) a transdução, que é a transferência de informação genética a partir de uma bactéria para outra por um bacteriófago. Uma vez dentro da célula, um transpóson pode saltar entre diferentes moléculas de DNA (p.ex., de um plasmídeo para outro ou

do cromossomo para o plasmídeo). Vários destes mecanismos contribuíram para a geração de *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina (Fig. 13-13 e Quadro 13-2).



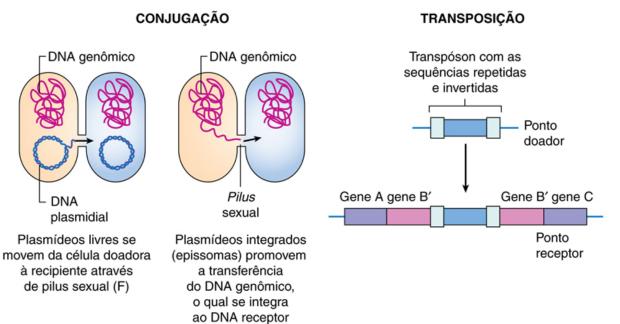


FIGURA 13-12 Mecanismos bacterianos de transferência gênica. (De Rosenthal KS, Tan J: Rapid reviews microbiology and immunology, St Louis, 2002, Mosby.)

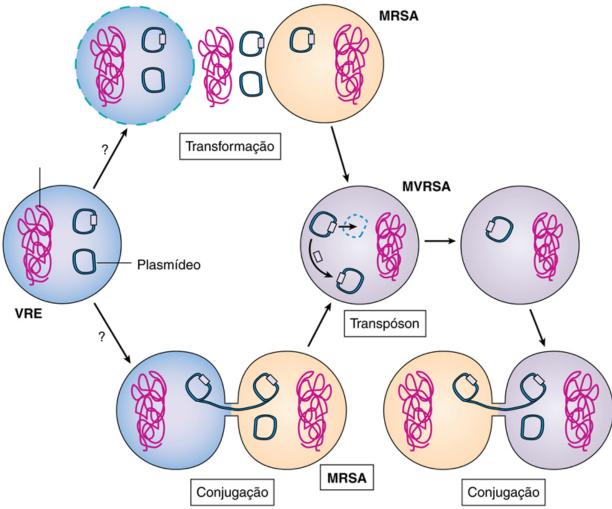


FIGURA 13-13 Mecanismos genéticos da evolução de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e à vancomicina (*MRSA* e *MVRSA*). *Enterococcus* resistente à vancomicina (*VRE*) (*em azul*) contém plasmídeos com múltiplos fatores de virulência e de resistência a antibióticos. Durante uma coinfecção, um MRSA (*em rosa*) pode ter adquirido o plasmídeo enterocócico de resistência (plasmídeo-e) (*em roxo*) através de transformação (depois da lise da célula enterocócica e da liberação do DNA), ou, mais provável, através de conjugação. Um transpóson no plasmídeo-e contendo o gene de resistência à vancomicina saltou para fora e se inseriu no plasmídeo de resistência múltipla do MRSA. O novo plasmídeo é prontamente disseminado para outros *S. aureus* através de conjugação.



Quadro 13-2 Produção de Staphylococcus aureus Resistentes à Vancomicina

por Múltiplas Manipulações Genéticas

Até recentemente, a vancomicina era o fármaco de último recurso para *Staphylococcus aureus* resistente aos antibióticos β-lactâmicos (família da penicilina) (p.ex., *S. aureus* meticilina-resistentes [MRSA]). Os isolados de *S. aureus* adquiriram o gene de resistência à vancomicina durante uma infecção mista com *Enterococcus faecalis* (Fig. 13-13). O gene de resistência à vancomicina estava contido dentro de um **transpóson** (Tn1546) em um plasmídeo conjugativo multirresistente. O plasmídeo foi provavelmente transferido por **conjugação** entre o *E. faecalis* e *S. aureus*. Em alternativa, depois da lise de *E. faecalis*, o *S. aureus* adquiriu o DNA por **transdução** e tornou-se **transformado** pelo novo DNA. O transpóson saltou então do plasmídeo de *E. faecalis*, **recombinou-se** e **integrou-se** no plasmídeo multirresistente de *S. aureus*, e o DNA do *E. faecalis* foi degradado. O plasmídeo de *S. aureus* resultante codifica a resistência a antibióticos β-lactâmicos, vancomicina, trimetoprima, gentamicina/canamicina/tobramicina e desinfetantes de amônio quaternário, e pode transferir-se para outras estirpes de *S. aureus* por **conjugação**. (Para mais informações, consultar Weigel na Bibliografia, no final do capítulo.)

Transformação

A transformação é o processo pelo qual as bactérias captam fragmentos de DNA livres e incorporam-nos em seus genomas. A transformação foi o primeiro mecanismo de transferência genética a ser descoberto em bactérias. Em 1928, Griffith observou que a virulência pneumocócica estava relacionada com a presença de uma cápsula de polissacarídeo e que os extratos de bactérias encapsuladas produtoras de colônias lisas poderiam transmitir essa característica para bactérias não encapsuladas, que normalmente se apresentavam como colônias irregulares. Os estudos de Griffith levaram Avery, MacLeod e McCarty a identificar o DNA como o princípio da transformação, cerca de 15 anos mais tarde.

Certas espécies são naturalmente capazes de assumir o DNA exógeno (tais espécies são consideradas competentes), incluindo *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus* spp. e *Neisseria* spp. Essa competência se desenvolve até o final da fase de crescimento logarítmico. *E. coli* e a maioria das outras bactérias carecem de uma capacidade natural para a incorporação de DNA, e essa competência deve ser induzida por métodos químicos ou eletroporação (uso de pulsos de alta tensão) para facilitar a absorção de plasmídeos e outras moléculas de DNA.

Conjugação

A **conjugação** resulta na transferência em um único sentido de DNA a partir de uma célula doadora (ou macho) a uma receptora (ou fêmea), através do *pili* **sexual**. Conjugação ocorre com a maioria, se não todas as eubactérias, geralmente entre os membros da mesma espécie ou de espécies relacionadas, mas também foi demonstrado que pode ocorrer entre procariontes e células de plantas, animais e fungos.

O tipo de *mating* (sexo) da célula depende da presença (macho) ou ausência (fêmea) de um plasmídeo conjugativo, tal como o **plasmídeo** F de *E. coli*. O plasmídeo F é definido como conjugativo porque transporta todos os genes necessários para a sua própria transferência, incluindo a capacidade de fazer *pili* sexuais e iniciar a síntese de DNA na origem de transferência (*ori*T) do plasmídeo. O *pilus* sexual é um dispositivo de secreção do tipo IV especializado. Após a transferência do plasmídeo F, os receptores se tornam células-macho F⁺. Se um fragmento de DNA cromossômico foi incorporado no plasmídeo, ele é denominado plasmídeo *prime* F (F'). Quando ele é transferido para a célula receptora, ele carrega esse fragmento consigo e converte a mesma em uma célula-macho F'. Se a sequência do plasmídeo F é integrada no cromossomo bacteriano, a célula é denominada célula Hfr (recombinação de alta frequência).

O DNA que é transferido por conjugação não é uma dupla-hélice, mas uma molécula de cadeia simples. Sua mobilização começa quando uma proteína codificada por plasmídeos faz uma clivagem ponto-específica de cadeia simples na oriT. O corte (*nick*) inicia a replicação ao longo do anel, e a cadeia linear obtida é direcionada para a célula receptora. O DNA de fita simples transferido é recircularizado e sua fita complementar é sintetizada. A conjugação resulta na transferência de uma parte da sequência do plasmídeo e uma porção do DNA cromossômico bacteriano. Devido à fragilidade da conexão entre as duas células, a transferência é geralmente interrompida antes de ser completada de tal modo que apenas as sequências cromossômicas adjacentes ao F integrado são transferidas. A interrupção artificial da relação entre um par Hfr e F⁻ tem sido útil na construção de um mapa consistente do DNA cromossômico de *E. coli*. Em tais mapas, a posição de cada gene é indicada em minutos (com base no valor de 100 minutos para a transferência completa, a 37°C), de acordo com o seu tempo de entrada numa célula receptora, em relação a uma origem fixa.

Transdução

A transferência genética por transdução é mediada por vírus bacterianos (bacteriófagos), que captam fragmentos de DNA e empacotam-nos em partículas de bacteriófagos. O DNA é entregue a células infectadas e é incorporado nos genomas bacterianos. A transdução pode ser classificada como **especializada**, se os fagos em questão transferem genes específicos (geralmente aqueles adjacentes aos seus locais de integração no genoma), ou **generalizada**, se a incorporação de sequências de DNA é aleatória devido ao empacotamento acidental do DNA do hospedeiro no capsídeo do fago. Por exemplo, uma nuclease do fago P1 degrada o DNA cromossômico da *E. coli* hospedeira, e alguns dos fragmentos do seu DNA são empacotados em partículas de fago. O DNA encapsulado, em vez do DNA do fago, é injetado uma nova célula hospedeira, onde pode recombinar-se com o DNA homólogo do hospedeiro. Partículas de transdução generalizada são valiosas no **mapeamento genético** dos cromossomos bacterianos. Os dois genes mais próximos no cromossomo bacteriano serão, muito provavelmente, cotransduzidos no mesmo fragmento de DNA.

Recombinação

A incorporação de DNA extracromossômico (estrangeiro) no cromossomo ocorre por recombinação. Existem dois tipos de recombinação: homóloga e não homóloga. A **recombinação homóloga (legítima)** ocorre entre sequências de DNA estreitamente relacionadas e geralmente substitui uma sequência por outra. O processo requer um conjunto de enzimas produzidas (em *E. coli*) pelos genes *rec.* A **recombinação não homóloga (ilegítima)** ocorre entre sequências distintas de DNA e, geralmente, produz inserções ou deleções, ou ambas. Este processo geralmente requer enzimas de recombinação especializadas (por vezes ponto-específicas), tais como as produzidas por muitos transpósons e bacteriófagos lisogênicos.

Engenharia Genética

A engenharia genética, também conhecida como tecnologia do DNA recombinante, utiliza as técnicas e ferramentas desenvolvidas pelos geneticistas bacterianos para purificar, amplificar, modificar e expressar sequências de genes específicos. O uso da engenharia genética e da "clonagem" revolucionou a biologia e medicina. Os componentes básicos de engenharia genética são (1) **vetores de expressão e clonagem**, que podem ser usados para inserir sequências de DNA em bactérias receptivas e amplificar a sequência desejada; (2) a **sequência de DNA** a ser amplificada e expressa; (3) **enzimas**, como **enzimas de restrição**, que são utilizadas para clivar o DNA de forma reprodutível em sequências definidas (Tabela 13-1); e (4) a **DNA ligase**, a enzima que liga o fragmento do vetor de clonagem.

Enzimas de Restrição de Uso Comum na Biologia Molecular

Micro-organismo	Enzima	Ponto de Reconhecimento
Acinetobacter calcoaceticus	Acc I	5' G T((2) (4) A C C A (3) (5) T G
Bacillus amyloliquefaciens H	Bam HI	5' G G A T C C C C T A G G
Escherichia coli RY13	Eco RI	5' G A A T T C C T T A A G
Haemophilus influenzae Rd	Hind III	5' A A G C T T T T C G A A
H. influenzae sorotipo c, 1160	Hinc II	5' G T(\frac{c}{r}) (\frac{c}{r}) A C C A(\frac{c}{r}) (\frac{c}{r}) T G
Providencia stuartii 164	Pst I	5' G T G C A G G A C G T C
Serratia marcescens	Sma I	5' C C C G G G G G C C C
Staphylococcus aureus 3A	Sau 3AI	5'GATC CTAG
Xanthomonas malvacearum	Xma I	5' C C C G G G G G C C C

Vetores de expressão e clonagem devem permitir que o DNA estranho seja inserido dentro deles, mas ainda devem de ser capazes de se replicar normalmente em um hospedeiro bacteriano ou eucariótico. Muitos tipos de vetores são utilizados atualmente. Os vetores plasmidiais, tais como pUC, pBR322 e pGEM (Fig. 13-14), são utilizados para os fragmentos de DNA de até 20 kb. Bacteriófagos, tais como lambda, são utilizados para os fragmentos de maiores dimensões até 25 kb, e os vetores **cosmídeos** combinam algumas das vantagens de plasmídeos e fagos para fragmentos de até 45 kb.

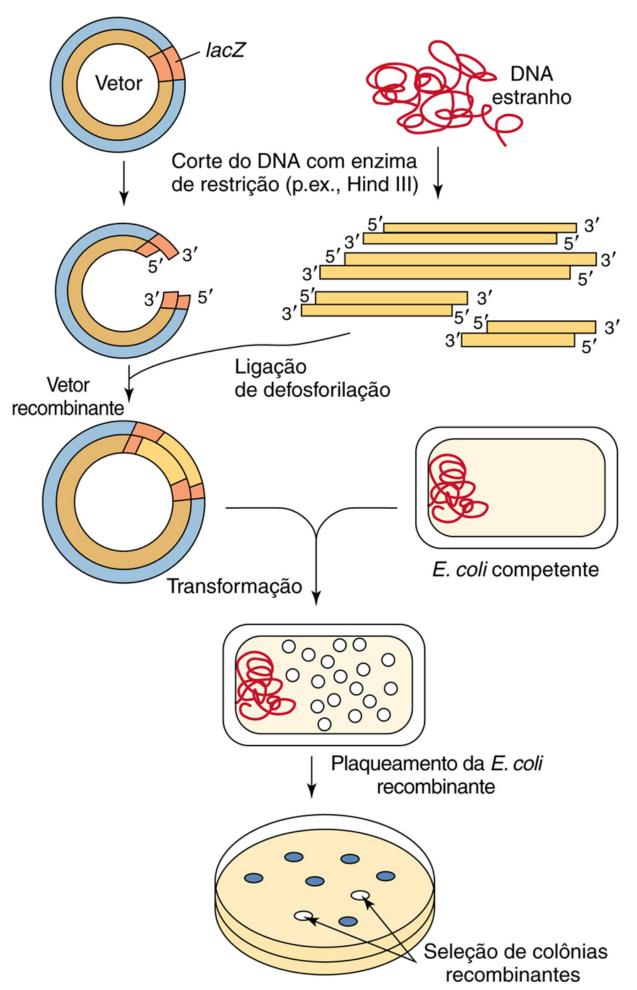


FIGURA 13-14 Clonagem de DNA estranho em vetores. O vetor e o DNA estranho são primeiramente digeridos por uma enzima de restrição. A inserção do DNA estranho no gene *lacZ* inativa o gene da β-galactosidase, permitindo seleção subsequente. O vetor é então ligado ao DNA estranho, usando DNA-ligase de bacteriófago T4. Os vetores recombinantes são então transformados para células *Escherichia coli* competentes. As células recombinantes de *E. coli* são depositadas em placas com ágar contendo antibióticos, um indutor do óperon *lac*, e

um substrato cromofórico que se torna azul em células contendo um plasmídeo, mas não uma inserção; as células contendo um plasmídeo com inserção permanecem brancas.

A maioria dos **vetores de clonagem** foi "concebida" para ter um ponto para a inserção de DNA estranho, um meio de seleção de bactérias que incorporaram qualquer plasmídeo (p.ex., resistência a antibióticos), e um meio de distinguir as bactérias que incorporaram os plasmídeos que contêm o DNA inserido. Os **vetores de expressão** têm sequências de DNA para facilitar a sua replicação em bactérias e células eucarióticas e também a transcrição do gene em RNAm.

O DNA a ser clonado pode ser obtido por purificação de DNA cromossômico a partir de células, vírus ou outros plasmídeos, ou por amplificação seletiva das sequências de DNA através de uma técnica conhecida como a *reação em cadeia da polimerase* (PCR) (PCR é mais bem explicada no Cap. 5). Tanto o vetor quanto o DNA estranho são clivados com enzimas de restrição (Fig. 13-14). As enzimas de restrição reconhecem uma sequência palindrômica específica e fazem um corte escalonado, o que gera extremidades aderentes (*sticky*), ou um corte brusco, o que gera pontas contundentes (Tabela 13-1). A maioria dos vetores de clonagem tem uma sequência chamada **ponto de múltipla clonagem**, que pode ser clivada por várias enzimas de restrição. A ligação do vetor com os fragmentos de DNA gera uma molécula denominada **DNA recombinante**, que é capaz de replicar as sequências inseridas. O número total de vetores recombinantes obtidos quando todos os fragmentos que resultam da clivagem do DNA cromossômico são clonados é conhecido como uma **biblioteca genômica**, porque deve haver pelo menos um representante de cada um dos genes na biblioteca. Uma abordagem alternativa à clonagem do gene para uma proteína é a utilização de uma enzima retroviral chamada *transcriptase reversa* (DNA polimerase RNA-dependente) para converter o RNAm na célula em um DNA complementar (DNAc). Uma **biblioteca de DNAc** representa os genes que são expressos como RNAm em uma célula definida.

O DNA recombinante é então transformado em um hospedeiro bacteriano, geralmente E. coli, e as bactérias que contêm o plasmídeo são selecionadas por resistência a antibióticos (p.ex., resistência à ampicilina). A biblioteca pode ser triada para encontrar um clone de E. coli que possui o fragmento de DNA desejado. Várias técnicas de triagem podem ser utilizadas para identificar as bactérias que contêm o DNA recombinante apropriado. O local de clonagem múltipla utilizado para inserir o DNA estranho é muitas vezes parte do gene lacZ do óperon lac. A inserção do DNA estranho no gene lacZ inativa o gene (agindo quase como um transpóson) e impede a síntese plasmídeo-dirigida de β -galactosidase na célula receptora, o que resulta em colônias bacterianas brancas em vez de colônias azuis, se a β -galactosidase fosse produzida e capaz de clivar um cromóforo adequado.

A engenharia genética tem sido usada para isolar e expressar genes para proteínas úteis, tais como insulina, interferon, hormônio do crescimento e interleucinas em bactérias, leveduras, ou mesmo células de insetos. Da mesma maneira, grandes quantidades de antígenos imunogênicos puros para uma vacina podem ser preparadas sem a necessidade de trabalhar com os organismos intactos da doença.

A vacina contra o vírus da hepatite B representa a primeira utilização com sucesso da tecnologia de DNA recombinante para fazer uma vacina aprovada para utilização humana pelo U.S. Food and Drug Administration. O antígeno de superfície da hepatite B é produzido pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Alternativamente, o DNA de plasmídeo capaz de promover a expressão do imunogênio desejado (vacina de DNA) pode ser injetado em um indivíduo para permitir às células hospedeiras expressarem o imunogênio e gerarem uma resposta imunitária. A tecnologia do DNA recombinante também se tornou essencial para diagnóstico laboratorial, ciência forense, agricultura e muitas outras disciplinas.

Referências Bibliográficas

Alberts B. Molecular biology of the cell. ed 4 New York: Garland Science; 2002.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Biochemistry. ed 6 New York: WH Freeman; 2006.

Cotter PA, Miller JF. In vivo and ex vivo regulation of bacterial virulence gene expression. Curr Opin Microbiol. 1998;1:17-26.

Lewin B. Genes IX. Sudbury, Mass: Jones and Bartlett; 2007.

Lodish H, Berk A, Kaiser CA, et al. Molecular cell biology. ed 6 New York: WH Freeman; 2007.

Nelson DL, Cox M. Lehninger principles of biochemistry. ed 4 New York: Worth; 2004.

Novick RP, Geisinger E. Quorum sensing in staphylococci. Ann Rev Genet. 2008;42:541-546.

Patel SS, Rosenthal KS. Microbial adaptation: putting the best team on the field. Infect Dis Clin Pract. 2007;15:330–334.

Rutherford ST, Bassler BL.: Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control, Cold Spring Harb Perspect Med 2pii: a012427, 2012. Available at www.perspectivesinmedicine.net/content/2/11/a012427.short.

Watson JD, Hopkins NH, Roberts JW, et al. Molecular biology of the gene. ed 4 Menlo Park, Calif: Benjamin-Cummings; 1987.

Weigel LM, Clewell DB, Gill SR, et al. Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus*. *Science*. 2003;302:1569–1571.

Artigos sobre Probióticos

Saad N, Delattre C, Urdaci M, et al. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. Food Sci Technol. 2013;50:1–16.

Smith PM, Howitt MR, Panikov N, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*. 2013;341:569–573.

Stone S, Edmonds R, Rosenthal KS. Probiotics: helping out the normal flora. Infect Dis Clin Pract. 2013;21:305–311.

Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. Science. 2010;328:228–231.

CAPÍTULO 14

Mecanismos de Patogenicidade Bacteriana

Para as bactérias, o corpo humano é um conjunto de nichos ambientais que provê calor, umidade e os nutrientes necessários para o seu crescimento. As bactérias possuem características que as permitem penetrar (invadir) o ambiente, permanecer em um nicho (aderir ou colonizar), ganhar acesso a recursos de nutrientes (enzimas degradativas), sequestrar íons (p.ex., ferro) e escapar da eliminação pelas respostas protetoras imunes e não imunes do hospedeiro (p.ex., cápsula). Quando um número suficiente de bactérias está presente (quorum), elas ativam funções para sustentar a colônia, incluindo a produção de biofilme. Infelizmente, muitos dos mecanismos que as bactérias usam para manter seus nichos e os subprodutos do crescimento bacteriano (p.ex., ácidos, gases) podem causar danos e problemas para o hospedeiro humano. Várias dessas características são fatores de virulência, os quais aumentam a capacidade da bactéria de causar doença. Embora muitas bactérias causem doença pela destruição direta do tecido, outras liberam toxinas que são depois disseminadas pelo sangue, causando patogênese generalizada (Quadro 14-1). As estruturas de superfície bacteriana são poderosos estimuladores da resposta do hospedeiro (fase aguda: interleucina [IL]-1, IL-6, fator de necrose tumoral [TNF]-α), que podem ser protetoras, mas são frequentemente as maiores colaboradoras para os sintomas da doença (p.ex., sepse). A produção da doença resulta da combinação de danos causados pela bactéria e pelas consequências da resposta inata e imune (inflamação) à infecção (Quadro 14-2).



Quadro 14-1 Mecanismos de Virulência Bacteriana

Aderência

Invasão

Produtos de metabolismo (ácidos, gases)

Toxinas

Enzimas degradativas

Proteínas citotóxicas

Endotoxina

Superantígeno

Indução de excesso inflamatório

Evasão fagocitária e depuração imunológica

Cápsula

Resistência a antibióticos

Crescimento intracelular



Quadro 14-2 Produção de Doença Bacteriana

- 1. A doença é causada pela injúria produzida pela bactéria somada às consequências das respostas inata e imune à infecção.
- 2. Os sinais e sintomas da doença são determinados pela função e importância do tecido afetado.
- 3. O período de incubação é o tempo requerido para a bactéria e/ou a resposta do hospedeiro para causar injúria suficiente e causar desconforto ou interferir em funções essenciais.

Nem toda bactéria ou infecção bacteriana causa doença, no entanto algumas sempre o fazem. O corpo humano é colonizado por inúmeras bactérias (**microbiota normal**), muitas das quais desempenham funções importantes nos seus hospedeiros. As bactérias da microbiota normal auxiliam na digestão de alimentos, produzem vitaminas (p.ex., vitamina K), protegem o hospedeiro de colonização por micróbios patogênicos, e ativam as respostas inata e imune apropriadas do hospedeiro. Essas bactérias endógenas residem em lugares como trato gastrointestinal (GI), boca, pele e trato respiratório superior, os quais podem ser considerados do lado externo do corpo (Fig. 14-1). A composição da microbiota normal pode ser alterada pelo tratamento com antibióticos, dieta, estresse e mudança da resposta do hospedeiro à microbiota. A perda das bactérias GI normais por tratamento com antibióticos de amplo espectro permite o crescimento de *Clostridium*

difficile, que causa colite pseudomembranosa. A microbiota normal alterada pode levar a uma resposta imune inapropriada, causando doenças intestinais inflamatórias.

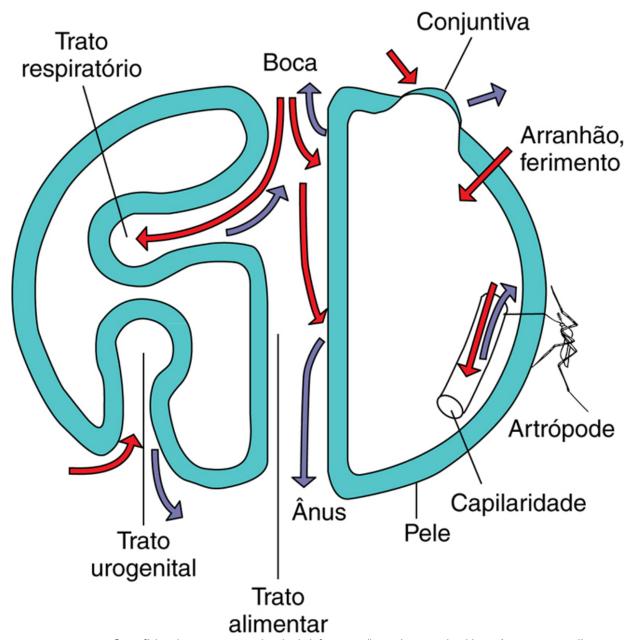


FIGURA 14-1 Superfícies do corpo que são locais de infecção e disseminação microbiana. As setas vermelhas indicam infecção; setas violetas indicam disseminação. (Modificada de Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman M, et al: *Mims' medical microbiology*, ed 5, Philadelphia, 2013, Elsevier.)

Bactérias da microbiota normal causam doenças se tiverem acesso a locais do corpo normalmente estéreis. **Bactérias virulentas** têm mecanismos que promovem seu crescimento no hospedeiro à custa do tecido deste ou das funções dos órgãos. **Bactérias oportunistas** tiram vantagens de condições preexistentes, tais como imunossupressão, para crescer e causar doenças importantes. Por exemplo, vítimas de queimaduras e pulmões de pacientes com fibrose cística estão no mais alto risco de infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, e pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) são muito suscetíveis a infecções por bactérias de crescimento intracelular, tais como as micobatérias.

Doença resulta do dano ou perda de tecidos ou funções dos órgãos devido à infecção ou resposta inflamatória do hospedeiro. Os **sinais e sintomas de uma doença** são determinados por uma mudança no tecido afetado. **Respostas sistêmicas** são produzidas por toxinas; e as citocinas, produzidas em resposta à infecção. A **severidade** da doença depende do órgão afetado e da extensão do dano causado pela infecção. Infecções do sistema nervoso central são especialmente sérias. A **cepa bacteriana** e o **tamanho do inóculo** também são fatores importantes para determinar se a doença ocorrerá; no entanto, o limiar para a produção da doença é diferente para diversas bactérias (p.ex., < 200 células de *Shigella* são requeridas para causar shigelose, mas 10⁸ organismos de *Vibrio cholerae* ou *Campylobacter* são requeridos para doença do trato GI). Fatores do hospedeiro também têm um papel importante no desenvolvimento da doença. Por exemplo, embora um milhão de organismos ou mais de *Salmonella* sejam necessários para uma gastroenterite começar a se estabelecer em um corpo sadio, apenas poucos milhares de organismos são necessários em uma pessoa cujo pH gástrico tenha sido

neutralizado com antiácidos ou outros meios. Defeitos congênitos, estado de imunodeficiência (Cap. 10) e outras condições relacionadas com doenças devem também aumentar a suscetibilidade da pessoa à infecção. Quanto mais tempo a bactéria permanece no corpo, maior será seu número, sua habilidade em se disseminar e seu potencial para causar dano ou doença, o que ocasionará uma maior resposta do hospedeiro.

Muitos dos fatores de virulência consistem em complexas estruturas ou atividades que são expressas apenas sob condições especiais (Fig. 13-6). Os componentes dessas estruturas estão comumente codificados juntos numa **ilha de patogenicidade**. Ilhas de patogenicidade são grandes regiões no cromossomo ou em plasmídeos que contêm sequências de genes as quais codificam numerosos fatores de virulência que podem requerer expressão coordenada. Esses genes podem ser acionados por um simples estímulo (p.ex., a temperatura do intestino, o pH de um lisossomo). A ilha de patogenicidade está geralmente dentro de um transpóson e pode ser transferida como uma unidade para diferentes locais dentro de um cromossomo ou para outra bactéria. Por exemplo, a ilha de patogenicidade SPI-2 da *Salmonella* é ativada pelo pH ácido de uma vesícula fagocítica dentro de um macrófago. Isso promove a expressão de aproximadamente 25 proteínas que se reúnem em um dispositivo molecular em forma de seringa (sistema de secreção tipo III), que injeta proteínas dentro da célula hospedeira para facilitar a sobrevivência intracelular da bactéria e seu crescimento. Similarmente, o biofilme formado por *Pseudomonas* é disparado quando há bactérias suficientes (um *quorum*) produzindo quantidade bastante de *N*-acetil-homoserina lactona (AHL) para ativar a expressão de genes para produção de polissacarídeos.

Entrada no Corpo Humano

Para uma infecção se estabelecer, a bactéria precisa primeiramente ganhar acesso ao interior do corpo (Tabela 14-1;Fig. 14-1). Os mecanismos de defesa e barreiras naturais (p.ex., pele, mucosa, epitélio ciliar) e secreções contêm substâncias antibacterianas (p.ex., lisozima, defensinas) que tornam difícil a penetração da bactéria no interior do corpo. No entanto, essas barreiras às vezes são quebradas (p.ex., um arranhão na pele, um tumor ou úlcera no intestino), promovendo um portal de entrada para a bactéria, ou ela deve ter os meios para comprometer a barreira e invadir o corpo. Na invasão, a bactéria pode se disseminar através do fluxo sanguíneo para outros locais do corpo.



Tabela 14-1

Porta de Entrada de Bactérias

Rota	Exemplos
Ingestão	Salmonella spp., Shigella spp., Yersinia enterocolitica, Escherichia coli enterotoxigênica, Vibrio spp., Campylobacter spp., Clostridium botulinum, Bacillus cereus, Listeria spp., Brucella spp.
Inalação	Mycobacterium spp., Nocardia spp., Mycoplama pneumoniae, Legionella spp., Bordetella, Clamydophila psittaci, Clamydophila pneumoniae, Streptococcus spp.
Trauma	Clostridium tetani, Staphylococcus aureus
Perfuração por seringa	Staphylococcus aureus, Pseudomonas spp.
Picada de artrópode	Rikettsia, Ehrlichia, Coxiella, Francisella, Borrelia spp., Yersinia pestis
Transmissão sexual	Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Treponema pallidum

A **pele** possui uma camada espessa e rígida (camada córnea) de células mortas que protegem o corpo da infecção. No entanto, cortes na pele, produzidos acidentalmente ou cirurgicamente ou mantidos abertos por cateteres ou outros dispositivos cirúrgicos, provêm meios de a bactéria ganhar acesso ao tecido suscetível subjacente mais profundo. Por exemplo, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, os quais são parte da microbiota normal na pele, podem entrar no corpo através de rupturas na pele e causar um problema maior para pessoas com cateteres permanentes ou outras linhas intravenosas.

A boca, o nariz, o trato respiratório, os ouvidos, os olhos, o trato urogenital e o ânus são locais através dos quais a bactéria pode entrar no corpo. Essas aberturas naturais da pele e as cavidades corporais associadas são protegidas por defesas naturais, tais como o muco e o epitélio ciliar, que limitam o trato respiratório superior, a lisozima e outras secreções antibacterianas na lágrima e no muco, e o ácido e a bile no trato GI, bem como imunoglobulina (Ig)A secretora. No entanto, muitas bactérias não são afetadas ou têm meios de evasão dessas defesas. Por exemplo, a membrana externa das bactérias Gram-negativas torna essas bactérias mais resistentes a lisozima, ácido e bile. Assim, as enterobactérias são também capazes de colonizar o trato GI. Um rompimento na barreira natural pode permitir a entrada dessas bactérias endógenas em locais do corpo normalmente estéreis, tais como o peritônio e a corrente sanguínea, para causar doença. Um exemplo disso é o paciente cujo tumor de cólon foi diagnosticado após detecção de septicemia (infecção da corrente sanguínea) causada por bactéria entérica.

Colonização, Adesão e Invasão

Bactérias diferentes colonizam partes diferentes do corpo. Essa colonização pode ocorrer na proximidade do local de entrada ou devido à presença de condições ótimas de crescimento do local. Por exemplo, *Legionella* é inalada e cresce nos pulmões, mas não se dissemina prontamente porque não tolera altas temperaturas (p.ex., 35°C). A colonização de locais que são normalmente estéreis implica a existência de um defeito nos mecanismos naturais de defesa ou uma nova porta de entrada. Pacientes com fibrose cística têm tais defeitos por causa da redução da função ciliar mucoepitelial e secreções mucosas alteradas; como resultado, seus pulmões são colonizados por *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Em alguns casos, a colonização requer estruturas e funções especiais para permanecer no local, sobreviver e obter alimento.

As bactérias podem utilizar mecanismos especiais para aderir e colonizar diferentes superfícies do corpo (Tabela 14-2). Se elas puderem aderir às camadas de células epiteliais e endoteliais da bexiga, intestino e vasos sanguíneos, não poderão ser removidas, e essa aderência as permite colonizar o tecido. Por exemplo, a função natural da bexiga elimina qualquer bactéria não fixada na parede da bexiga. *Escherichia coli* e outras bactérias possuem **adesinas** que se ligam a receptores específicos na superfície do tecido e protegem os organismos de serem removidos. Muitas dessas proteínas adesinas estão presentes nas pontas das **fímbrias** (*pili*) e ligam-se firmemente a açúcares no tecido-alvo; essa atividade de ligação ao açúcar define essas proteínas como lectinas. Por exemplo, a maioria das cepas de *E. coli* que causam pielonefrite produzem uma adesina fimbrial denominada fímbria P. Essa adesina pode se ligar a α-D-galactosil-β-D-galactosídeo (Gal-Gal), que é parte da estrutura de antígenos do grupo P do sangue em eritrócitos humanos e células uroepiteliais. *Pili* de *Neisseria gonorrhoeae* são importantes fatores de virulência; eles se ligam a receptores oligossacarídeos em células epiteliais. Espécies de *Yersinia, Bordetella pertussis* e *Mycoplasma pneumoniae* expressam proteínas adesinas que não são fímbrias. *Streptococci, S. aureus, e outras bactérias segregam proteínas que ligam componentes da matriz extracelular das células epiteliais, tais como fibronectina, colágeno ou laminina, denominado MSCRAMMs (do inglês, <i>microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*).



Tabela 14-2

Exemplos de Mecanismos de Aderência Bacteriana

Bactéria	Adesina	Receptor
Staphylococcus aureus	Fator de aglutinação A	Fibrinogênio
Staphylococcus spp.	MSCRAMM	Componentes da matriz extracelular (fibronectina, laminina, colágeno etc.)
Streptococcus do Grupo A	Complexo proteico LTA-M Proteína F, MSCRAMM	Componentes da matriz extracelular (fibronectina, laminina, colágeno etc.)
Streptococcus pneumoniae	Adesinas e outras proteínas	N-acetil-hexosamina-galactose
Escherichia coli	Fímbria tipo I Fímbria antígeno fator de colonização Fímbria P	D-manose Gangliosídio GM 1 Glicolipídio grupo sanguíneo P
Neisseriae gonorrhoeae	Fímbria	${\it Ganglios idio} \ {\it GD}_1$
Treponema pallidum	P ₁ , P ₂ , P ₃	Fibronectina
Clamydia trachomatis	Lectinas de superfície	N-Acetilglicosamina
Mycoplasma pneumoniae	Proteína P ₁	Ácido siálico
Vibrio cholerae	Pili tipo 4	Fucose e manose

LTA, ácido lipoteicoico; MSCRAMM, componentes da superfície microbiana que reconhecem moléculas da adesivas da matriz.

Uma adaptação bacteriana especial que facilita a colonização, especialmente em equipamentos cirúrgicos tipo válvulas e cateter intravenosos, é o **biofilme**. Bactérias em biofilme são unidas por uma rede viscosa de polissacarídeos que conectam as células umas às outras e à superfície. A produção de biofilme requer um número suficiente de bactérias (*quorum*). Quando *P. aeruginosa* determina que o tamanho da colônia é grande o suficiente (*quorum sensing*), ela produz o biofilme. A placa dental é outro exemplo de biofilme. A matriz do biofilme pode também proteger a bactéria de defesas do hospedeiro e antibióticos.

Embora as bactérias não tenham mecanismos que permitam atravessar a pele intacta, diversas bactérias podem transpassar a membrana mucosa e outras barreiras dos tecidos para entrar em locais normalmente estéreis e em tecidos mais suscetíveis. Essas bactérias invasivas podem destruir a barreira, induzir a inflamação para permeabilizá-la ou penetrar nas células da barreira. Microrganismos como *Salmonella* e *Yersinia* são bactérias entéricas que usam a fímbria para ligar-se às células M (micropregas) do cólon e depois injetam proteínas dentro da célula M que estimula a célula da membrana a circundar e interiorizar a bactéria. Essas bactérias produzem um sistema de secreção tipo III que parece uma seringa molecular, o qual injeta fatores formadores de poros e moléculas efetoras na célula hospedeira. As proteínas efetoras podem

facilitar a captura e invasão, e promover sobrevivência intracelular e replicação da bactéria ou morte por apoptose da célula hospedeira. *E. coli* enteropatogência secreta proteínas dentro da célula hospedeira que cria um sistema de ancoramento portátil para si própria, e a *Salmonella* usa o dispositivo para promover sua internalização na vesícula, o que a permite viver intracelularmente dentro do macrófago (ver animações desenvolvidas pelo Howard Hughes Medical Institute [seguir *websites*]). Muitas das proteínas injetadas nessas células pelo dispositivo de secreção do tipo III, promovem a polimerização da actina. Para a *Salmonella*, isso promove a captação fagocitária; para a *Shigella* e a *Listeria monocytogenes*, o movimento dentro da célula e para outras células. Excelentes vídeos desses processos podem ser vistos no www.hhmi.org/biointeractive/disease/ecoli.html e www.hhmi.org/biointeractive/disease/salmonella.html. Além disso, as salmonelas e outras bactérias promovem a invasão do trato GI pelo enfraquecimento das *tight junctions* entre as células mucoepiteliais através de proteínas bacterianas ou através da indução de inflamação.

Ações Patogênicas das Bactérias

Destruição do Tecido

Subprodutos do crescimento bacteriano, especialmente fermentação, incluem ácidos, gás e outras substâncias que são tóxicas ao tecido. Em adição, muitas bactérias liberam enzimas degradativas para romper o tecido, proporcionando nutrientes para o crescimento dos organismos e promovendo também a disseminação da bactéria. Por exemplo, organismos de Clostridium perfrigens são parte da microbiota normal do trato GI, mas também são patógenos oportunistas que podem estabelecer infecção em tecidos desprovidos de oxigênio e causar gangrena gasosa. Essas bactérias anaeróbias produzem enzimas (p.ex., fosfolipase C, colagenase, protease, hialuronidase), diversas toxinas, ácidos e gases provenientes do metabolismo bacteriano, que destroem o tecido. Estafilococos produzem muitas enzimas diferentes que modificam o ambiente do tecido. Essas enzimas incluem hialuronidase, fibrinolisina e lipase. Estreptococos também produzem enzimas, incluindo estreptolisinas S e O, hialuronidase, DNAses e estreptoquinases.

Toxinas

Toxinas são produtos bacterianos que prejudicam diretamente o tecido ou desencadeiam atividades biológicas destrutivas. Toxinas e substâncias com atividade tipo toxinas são enzimas degradativas que causam a lise celular ou de proteínas específicas que se ligam a receptores, e assim iniciam reações tóxicas em um tecido-alvo específico. Em adição, endotoxinas (porção lipídica A do polissacarídeo) e proteínas superantígenos promovem estimulação excessiva ou inapropriada das respostas inata ou imune.

Em muitos casos, a toxina é completamente responsável por causar os sintomas característicos da doença. Por exemplo, a toxina pré-formada presente em alimentos é responsável pela intoxicação alimentar por *S. aureus* e *Bacillus cereus* e o botulismo causado por *Clostridium botulinum*. Os sintomas causados pela toxina pré-formada ocorrem mais cedo que em outras formas de gastroenterites, porque o efeito é como ingerir veneno, e a bactéria não necessita crescer para os sintomas ocorrerem. Devido à toxina poder se disseminar sistematicamente pela corrente sanguínea, sintomas podem aparecer em locais distantes do ponto de infecção, tal como ocorre no tétano que é causado por *Clostridium tetani*.

Exotoxinas

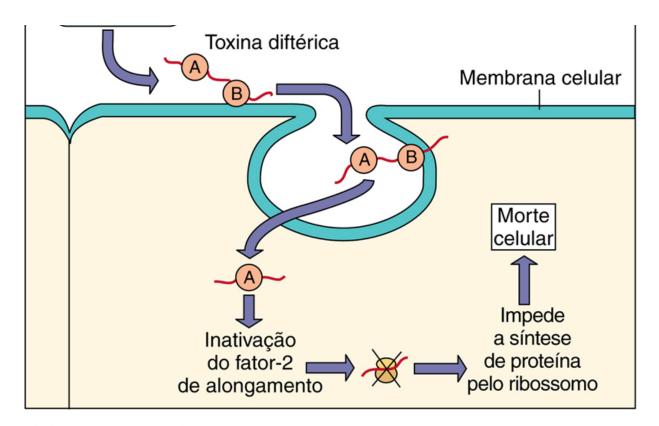
Exotoxinas são proteínas que podem ser produzidas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e incluem enzimas citolíticas e receptores de proteínas que alteram a função ou destroem a célula. Em muitos casos, o gene da toxina é codificado no plasmídeo (toxina tetânica de *C. tetani*, toxinas termolábeis [TL] ou termorresistentes [TR] de *E. coli* enterotoxigênica), ou fago lisogênico (*Corynebacterium diphteriae* e *C. botulinum*).

Toxinas citolíticas incluem enzimas que rompem as membranas, tais como α -toxina (fosfolipase C) produzida por *C. perfringens*, as quais rompem esfingomielina e outras membranas fosfolipídicas. Hemolisinas se inserem e rompem eritrócitos e outras membranas celulares. Toxinas formadoras de poros, incluindo estreptolisina O, podem promover vazamento de íons e água da célula e alterar as funções celulares ou causar lise da célula.

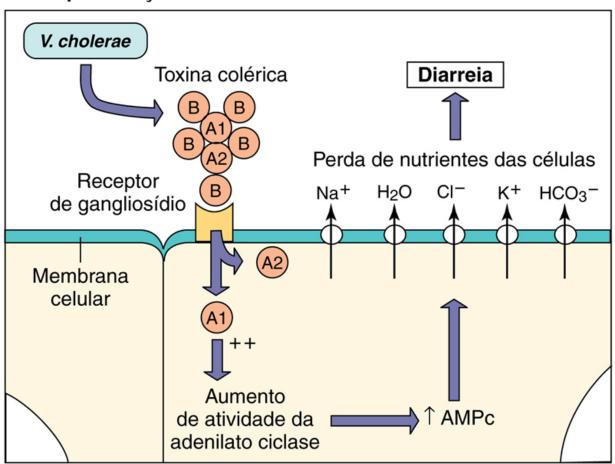
Muitas toxinas são diméricas com subunidades A e B (**toxinas A-B**). A porção **B** da toxina A-B liga-se a receptores específicos da superfície celular, e depois a subunidade A é transferida para o interior da célula, onde ela age promovendo danos à célula (B de *binding* e A de *action*). Os tecidos-alvo dessas toxinas são bem definidos e limitados (**Fig. 14-2** e **Tabela 14-3**). Os alvos bioquímicos para toxinas A-B incluem ribossomos, mecanismos de transporte e sinalizadores intracelulares (produção de monofosfato de adenosina cíclico [AMPc], função de proteína G), com efeitos variando de diarreia até a perda de funções neurológicas e morte. As propriedades funcionais das toxinas citolíticas e outras exotoxinas são discutidas em maiores detalhes nos capítulos que tratam da doença específica envolvida.

A Inibição da síntese proteica

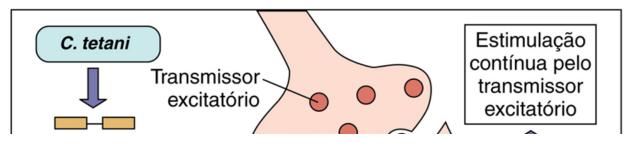
(C. diphtheriae



B Hiperativação



C Efeitos na transmissão nervo-músculo



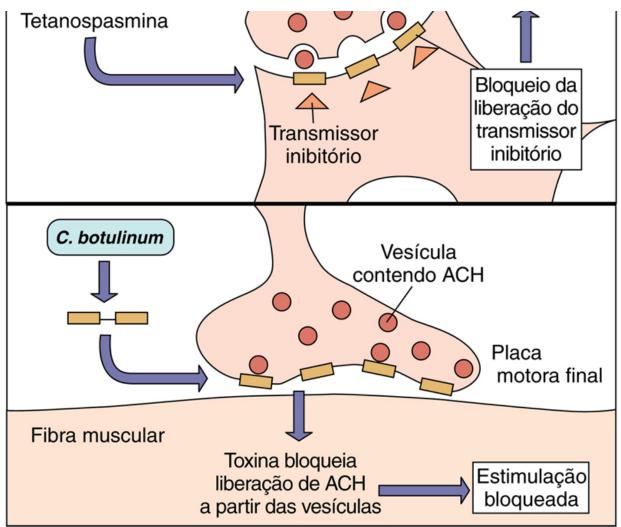


FIGURA 14-2 A-C, O modo de ação de exotoxinas diméricas A-B. As toxinas bacterianas A-B frequentemente consistem em uma molécula de cadeia dupla. A cadeia B liga-se e promove a entrada da cadeia A nas células, e a cadeia A apresenta atividade inibitória contra algumas funções vitais. ACH, Acetilcolina; AMPc, monofosfato de adenosina cíclico; C. botulinum, Clostridium botulinum; C. diphtheriae, Corynebacterium diphtheriae; C. tetani, Clostridium tetani; V. cholerae, Vibrio cholerae. (Modificada de Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman M, et al: Mims' medical microbiology, ed 5, Philadelphia, 2013, Elsevier.)



Propriedades de Toxinas Bacterianas Tipo A-B

Toxina	Organismo	Localização do Gene	Estrutura de Subunidade	Receptor na Célula-alvo	Efeitos Biológicos
Enterotoxina termolábil	E. coli	Plasmídeo	Semelhante ou idêntica à toxina da cólera		
Exotoxina A de <i>Pseudomonas</i>	Pseudomonas aeruginosa	Cromossômica	A-B	Receptor de α_2 - macroglobulina (α_2 - 2MR)	Semelhantes ou idênticos aos da toxina diftérica
Toxina adenilato ciclase de <i>Bordetella</i>	Bordetella spp.	Cromossômica	A-B	Desconhecido, provavelmente glicolipídico	Aumento dos níveis de AMPc na célula-alvo, funções celulares modificadas, ou morte celular
Toxina botulínica	Clostridium botulinum	Fago	A-B	Polisialogangliosídios mais sinatotagmina (correceptores)	Diminuição de liberação de acetilcolina pré-sináptica periférica, paralisia flácida
Toxina da cólera	Vibrio cholerae	Cromossômica	A-B ₅	Gangliosídio (GM ₁)	Ativação de adenilato ciclase, aumento dos níveis de AMPc, diarreia secretória
Toxina diftérica	Crynebacterium diphtheriae	Fago	A-B	Precursor do receptor de fator de crescimento	Inibição da síntese de proteínas, morte celular
Toxina pertussis	Bordetella pertussis	Cromossômica	A-B ₅	Glicoproteína de superfície com resíduos terminais de ácido siálico	Bloqueio da transdução de sinal mediada por proteínas G-alvo
Toxina tetânica	Clostridium tetani	Plasmídeo	A-B	Polisialogangliosídios mais glicoproteína de 15 kDa (correceptores)	Diminuição na liberação de neurotransmissores a partir de neurônios inibidores, paralisia espástica
Toxinas Antraz	Bacillus antracis	Plasmídeo	Três proteínas separadas (FE, FL, AP)	Marcador de tumor endotelial-8 (TEM-8) Proteína 2 de morfogênese capilar (CMG2)	FE + AP: Aumento dos níveis de AMPc nas células-alvo, edema localizado; FL + AP: Morte de células-alvo e cobaias
Toxinas da Shiga	Shigella dysenteriae	Cromossômica	A-B	Globotriasilceramida (Gb3)	Inibição da síntese de proteína, morte celular
Toxinas semelhantes à toxina de Shiga	Shigella spp., E. coli	Fago	Semelhantes ou idênticas às da toxina de Shiga		

Modificada de Mandell G, Douglas G, Bennet J: *Principles and practice of infectious disease*, ed 3, New York, 1990, Churchill Livingstone. *AMPc*, monofosfato de adenosina cíclico; *FE*, fator de edema; *FL*, fator letal; *AP*, antígeno protetor.

Superantígenos são um grupo especial de toxinas (Fig. 14-3). Essas moléculas ativam as células T ligando-se simultaneamente ao receptor de célula T e a uma molécula do complexo principal de histocompatibilidade classe II (MHC II) em uma célula apresentadora de antígeno sem requerer o antígeno. *Superantígenos ativam uma grande quantidade de células T, o que libera uma quantidade maior (tempestade de citocinas) de interleucinas (incluindo IL-1, IL-2, IL-6),* TNF-α, interferon (IFN)-γ, e várias quimiocinas, causando *risco de morte por febre, choque, erupção cutânea e resposta autoimune.* Essas estimulações por superantígenos da célula T podem também levar à morte de células T ativadas, resultando em perda de clones de células T específicos e de suas respostas imunes. Os superantígenos incluem a toxina da síndrome do choque tóxico de *S. aureus*, as enterotoxinas estafilocócicas e as toxinas enterogênicas A ou C de *S. pyogenes*.

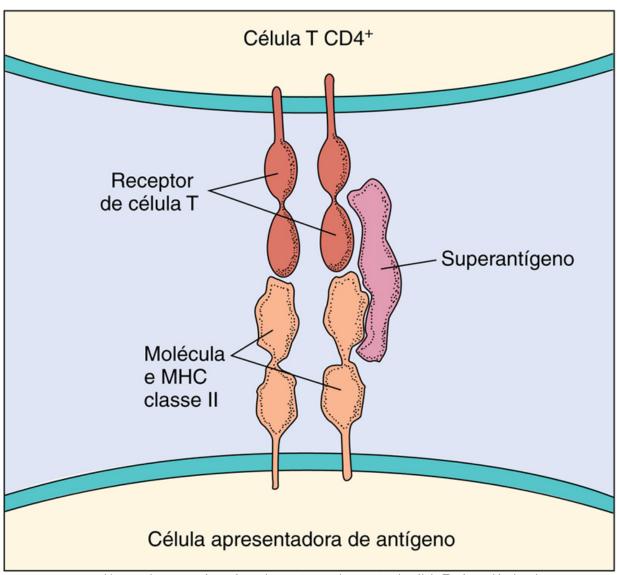


FIGURA 14-3 Ligação de superantígeno às regiões externas do receptor de célula T e às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II.

Endotoxina e Outros Componentes da Parede Celular

A presença de componentes da parede celular bacteriana age como um sinal de infecção que promove um multialarme poderoso avisando o corpo para ativar os sistemas de proteção do hospedeiro. Os padrões moleculares nessas estruturas (padrões moleculares associados a patógenos [PAMP]) ligam-se a receptores *Toll-like* (TLR) e a outras moléculas e estimulam a produção de citocinas (Caps. 8 e 10). Em alguns casos, a resposta hospedeira é excessiva e pode até representar risco à vida. A fração do lipídio A do lipopolissacarídeo (LPS) produzida por bactérias Gram-negativas é um ativador poderoso de fase aguda e reações inflamatórias, sendo denominada de endotoxina. É importante notar que endotoxina não é o mesmo que exotoxina e que *apenas bactérias Gram-negativas produzem endotoxina*. De forma mais fraca, respostas semelhantes às da endotoxina podem ocorrer devido a estruturas bacterianas de bactérias Gram-positivas, incluindo ácido lipoteicoico.

Bactérias Gram-negativas liberam endotoxina durante a infecção. A endotoxina liga-se a receptores específicos (CD14 e TLR4) em macrófagos, células B e outras, e estimula a produção e liberação de **citocinas de fase aguda**, tais como IL-1, TNF-α, IL-6 e prostaglandinas (Fig. 14-4). A endotoxina também estimula o crescimento (mitogênico) de células B.

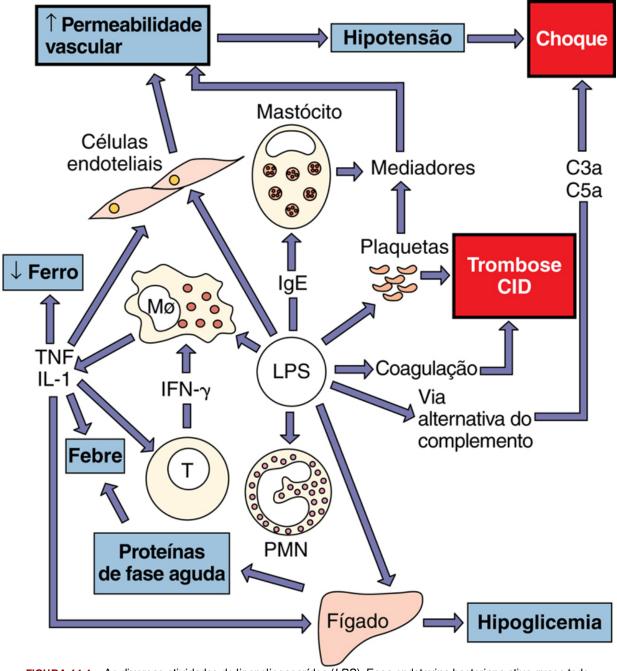


FIGURA 14-4 As diversas atividades do lipopolissacarídeo (*LPS*). Essa endotoxina bacteriana ativa quase todo o mecanismo imune, bem como a via de coagulação, os quais, juntos, tornam o LPS um dos mais poderosos estímulos imunes conhecidos. *CID*, Coagulação intravascular disseminada; *IFN-y*, interferon-y; *IgE*, imunoglobulina E; *IL-1*, interleucina-1; *PMN*, leucócito polimorfonuclear (neutrófilo); *TNF*, fator de necrose tumoral. (Modificada de Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman M, et al: *Mims' medical microbiology*, ed 5, Philadelphia, 2013, Elsevier.)

Em baixas concentrações, a endotoxina estimula o desenvolvimento de respostas protetoras, tais como febre, vasodilatação e a ativação de resposta imune e inflamatória (Quadro 14-3). No entanto, os níveis de endotoxina no sangue de pacientes com sepse devido a bactérias Gram-negativas (bactérias no sangue) podem ser muito altos, e a resposta sistêmica para isso pode ser avassaladora, resultando em choque e possível morte. Altas concentrações de endotoxina também podem ativar um caminho alternativo de complemento e produção de anafilatoxinas (C3a, C5a), contribuindo para vasodilatação sistêmica e extravasamento capilar. Em combinação com TNF-α e IL-1, isso pode levar a hipotensão e choque. Coagulação intravascular disseminada (CID) pode também resultar da ativação das vias de coagulação sanguínea. Febre alta, petéquias (manchas na pele resultantes de extravasamento capilar) e potenciais sintomas de choque (resultantes do aumento da permeabilidade capilar) associados à infecção por *Neisseria meningitidis* podem estar relacionados com grandes quantidades de endotoxina liberadas durante a infecção.



Quadro 14-3 Toxicidade Mediada por Endotoxina

Febre

Leucopenia seguida de leucocitose Ativação do complemento Trombocitopenia Coagulação intravascular disseminada Decréscimo de circulação periférica e perfusão para órgãos principais Choque Morte

Imunopatogênese

Em muitos casos, os sintomas de infecção bacteriana são produzidos por respostas imune, inata e inflamatória excessivas deflagradas pela infecção. Quando limitada e controlada, a resposta de fase aguda aos componentes da parede celular é uma resposta antibacteriana protetora. No entanto, essas respostas também causam febre e mal-estar, e, quando sistêmicas e fora de controle, a resposta de fase aguda e a inflamação podem causar sintomas associados a sepse e meningite com risco à vida (Fig. 14-4). Neutrófilos ativados, macrófagos e complemento podem causar dano nos locais de infecção. A ativação do complemento também pode causar liberação de anafilatoxinas que iniciam a permeabilidade vascular e o extravasamento capilar. A tempestade de citocinas gerada pelos superantígenos e endotoxina pode causar choque e interrupção da função corpórea. Formação de granuloma induzido por células T CD4 e macrófagos, em resposta a Mycobacterium tuberculosis, também pode levar à destruição do tecido. Respostas autoimunes podem ser deflagradas por algumas proteínas bacterianas, tais como a proteína M de S. pyogenes, a qual antigenicamente imita o tecido do coração. Os anticorpos antiproteína M reagem cruzadamente e podem iniciar dano ao coração para causar febre reumática. Complexos imunes glomerulonefrite pós-estreptocócica. depositados glomérulo do rim causam Treponema (sífilis), Borrelia (doença de Lyme) e outras bactérias, a resposta imune do hospedeiro é a principal causa de sintomas de doença em pacientes.

Mecanismos de Escape às Defesas do Hospedeiro

Bactéria são parasitas, e a evasão às respostas protetoras do hospedeiro é uma vantagem seletiva. Logicamente, quanto mais a infecção bacteriana permanece no hospedeiro, mais tempo a bactéria tem para crescer e causar dano. Portanto, bactérias que podem evadir-se ou incapacitar as defesas do hospedeiro têm um potencial maior para causar doença. Bactérias evitam o reconhecimento e morte pelas células fagocíticas, inativam ou evitam o sistema do complemento e anticorpos, e até crescem dentro das células para se protegerem das respostas do hospedeiro (Quadro 14-4).



Quadro 14-4 Defesas Microbianas contra Depuração Imunológica pelo

Hospedeiro

Encapsulamento

Mimetismo antigênico

Mascaramento antigênico

Alteração antigênica

Produção de proteases anti-imunoglobulina

Destruição de fagócitos

Inibição de quimiotaxia

Inibição de fagocitose

Inibição de fusão por fagolisossomo

Resistência às enzimas lisossômicas

Replicação intracelular

A cápsula é um dos fatores de virulência mais importantes (Quadro 14-5). Essas camadas viscosas funcionam protegendo as bactérias de respostas imunes e fagocitárias. As cápsulas são normalmente constituídas de polissacarídeos, que apresentam baixa imunogenicidade. A cápsula de *S. pyogenes*, por exemplo, é feita de ácido hialurônico, que mimetiza o tecido conjuntivo humano, portanto mascarando a bactéria e mantendo-a sem que seja reconhecida pelo sistema imune. A cápsula também atua como uma cobertura escorregadia que é difícil de ser agarrada e que se rompe quando é capturada por um fagócito. A cápsula também protege a bactéria da destruição dentro do fagolisossomo de um macrófago ou leucócito. Todas essas propriedades podem estender o tempo da bactéria no sangue (bacteremia) antes de ela ser eliminada pelas respostas do hospedeiro. Cepas mutantes que perdem a capacidade de produzir cápsula, em bactérias que normalmente a apresentam, também perdem sua virulência; exemplos de tais bactérias são o *Streptococcus pneumoniae* e a *N. meningitidis*. O **biofilme**, que é feito de material capsular, pode evitar que o anticorpo e o complemento capturem a bactéria.



Quadro 14-5 Exemplos de Microrganismos Encapsulados

Streptococcus pneumoniae Streptococcus pyogenes (grupo A) Streptococcus agalactiae (grupo B) Bacillus anthracis Bacillus subtilis Neisseria gonorrhoeae Neisseria meningitidis Haemophilus influenzae Escherichia coli Klebsiella pneumoniae Salmonella spp. Yersinia pestis Campylobacter fetus Pseudomonas aeruginosa Bacteroides fragilis Cryptococcus neoformans (levedura)

Bactérias podem evitar a resposta dos antibióticos pela variação antigênica, pela inativação de anticorpos ou pelo crescimento intracelular. *N. gonorrhoeae* pode variar a estrutura da superfície de antígenos para evitar as respostas de anticorpos e também produz uma protease que degrada IgA. *S. aureus* produz uma proteína IgG ligante, proteína A, que evita que o anticorpo ative o complemento ou uma opsonina e mascara a bactéria contra detecção. Bactérias que crescem intracelularmente incluem micobactéria, *francisellae*, brucela, clamídia e riquétsia (Quadro 14-6). Diferentemente de muitas bactérias, o controle dessas infecções requer respostas imunes de células T para ativar macrófagos a fim de destruir ou criar uma parede (granuloma) ao redor das células infectadas (como para *M. tuberculosis*).

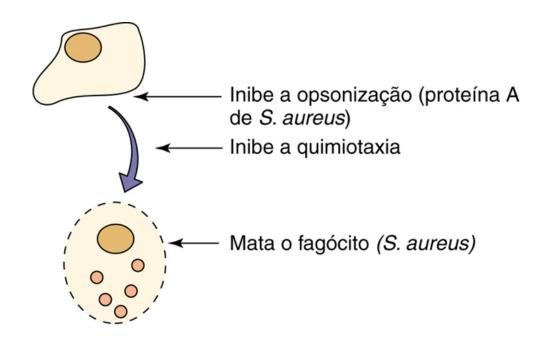


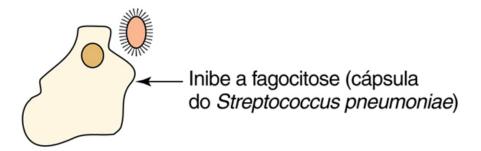
Quadro 14-6 Exemplos de Patógenos Intracelulares

Mycobacterium spp.
Brucella spp.
Francisella spp.
Rickettsia spp.
Chlamydia spp.
Listeria monocytogenes
Salmonella typhi
Shigella dysenteriae
Yersinia pestis
Legionella pneumophila

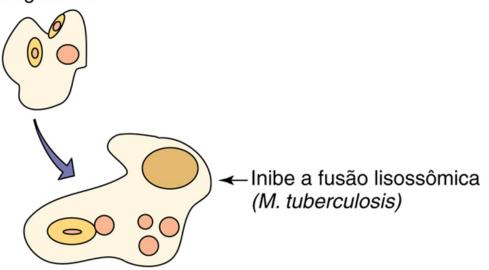
Bactérias evitam a ação do complemento prevenindo o acesso de componentes à membrana, mascarando elas mesmas, e inibindo a ativação da cascata. Um espesso peptidoglicano nas bactérias Gram-positivas e o longo antígeno O do LPS da maioria das bactérias Gram-negativas (não *Neisseria* spp.) limitam o acesso ao complemento e protegem a membrana bacteriana de ser danificada. Pela degradação do componente C5 do complemento, *S. pyogenes* pode limitar a quimiotaxia de leucócitos no ponto da infecção. Para compensar a falta de antígeno O, *N. gonorrhoeae* une o ácido siálico ao seu lipooligossacarídeo (LOS) para inibir a ativação do complemento.

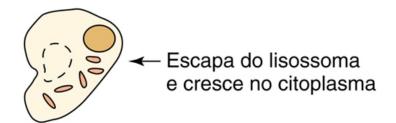
Fagócitos (neutrófilos, macrófagos) são as mais importantes defesas antibacterianas, mas muitas bactérias podem contornar a morte fagocítica de várias maneiras ou matar o fagócito. Elas podem produzir enzimas capazes de promover a lise das células fagocitárias (p.ex., a estreptolisina produzida por *S. pyogenes* ou a α-toxina produzida pela *C. perfringens*) e podem inibir a fagocitose (p.ex., os efeitos da **cápsula** e da **proteína M** produzidas por *S. pyogenes*), ou bloquear a morte intracelular. Mecanismos bacterianos para proteção de morte intracelular incluem bloqueio de fusão do lisossomo com o fagossomo para prevenir contato com seus conteúdos bactericidas (*Mycobacterium* spp.), resistência enzimática ou mediada pela cápsula às enzimas lisossômicas ou substâncias bacterianas e a habilidade de sair do fagossomo dentro do citoplasma do hospedeiro antes de ser exposto às enzimas lisossômicas (Fig. 14-5 e Tabela 14-4). A produção de catalase por estafilococos pode quebrar o peróxido de hidrogênio pelo sistema da mieloperoxidase. Muitas bactérias que são internalizadas, mas sobrevivem à fagocitose, podem usar a célula a fim de se abrigar para o crescimento e assim evitar a resposta imune; além disso, a capacidade de internalização permite que as bactérias se disseminem pelo corpo.

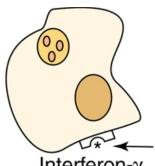




Fagocitose







Resiste à ação antibacteriana do lisossoma e se multiplica no interior da célula

(*M. leprae*, espécies de *Salmonella*, *S. aureus*)

→ Bloqueio da ativação pelo nterferon-γ interferon-γ micobactéria)

FIGURA 14-5 Mecanismos bacterianos para escapar da eliminação fagocitária. Exemplos de bactérias que usam os mecanismos antifagocíticos específicos são fornecidos. M. leprae, Mycobacterium leprae; M. tuberculosis, Mycobacterium tuberculosis; S. aureus, Staphylococcus aureus.



Tabela 14-4

Métodos que Evitam a Morte por Fagocitose

Método	Exemplo
Inibição da fusão do fagolisossoma	Legionella spp., Mycobacterium tuberculosis, Chlamydia spp.
Resistência às enzimas lisossômicas	Salmonella typhimurium, Coxiella spp., Ehrlichia spp., Mycobacterium leprae, Leishmania spp.
Adaptação à replicação no citoplasma	Listeria, Francisella e Rickettsia spp.

S. aureus pode escapar das defesas do hospedeiro pelo bloqueio de acesso ao ponto de infecção. S. aureus pode produzir coagulase, uma enzima que promove a conversão de fibrina a fribrinogênio para produzir uma barreira tipo coágulo; esse aspecto distingue S. aureus de S. epidermidis. S. aureus e S. pyogenes, bem como outras bactérias, são piogênicos (formadores de pus), e a formação de pus devido à morte de neutrófilos limita o acesso de anticorpos e antibióticos à bactéria. M. tuberculosis é capaz de sobreviver no hospedeiro promovendo o desenvolvimento de granuloma, dentro do qual bactérias viáveis podem permanecer durante toda a vida da pessoa infectada. A bactéria pode reassumir crescimento se houver um declínio no status imune do indivíduo.

Resumo

Os fatores de virulência primários das bactérias são cápsula, adesinas, invasinas, enzimas degradativas, toxinas e mecanismos de escape da eliminação pelas defesas do hospedeiro. Bactérias podem ter apenas um mecanismo de virulência. Por exemplo, *C. difhtheriae* apresenta um único mecanismo de virulência, que é a toxina diftérica. Outras bactérias expressam muitos fatores de virulência. *S. aureus* é um exemplo de tal bactéria; ela expressa adesinas, enzimas degradativas, toxinas, catalase e coagulase, que são responsáveis pela produção do espectro de doenças. Além do mais, diferentes cepas de uma espécie bacteriana podem expressar diferentes mecanismos de virulência. Por exemplo, os sintomas e sequelas de gastroenterite (diarreia) causada por *E. coli* podem incluir invasão e sangue nas fezes, fezes aquosas típicas da cólera e até doença hemorrágica, dependendo da cepa infectante.

Referências Bibliográficas

Behnsen J, Jellbauer S, Wong CP, et al. The cytokine IL-22 promotes pathogen colonization by suppressing related commensal bacteria. *Immunity*. 2014;40:262–273.

Bisno AL, Brito MO, Collins CM. Molecular basis of group A streptococcal virulence. Lancet Infect Dis. 2003;3:191–200.

Bower S, Rosenthal KS. Bacterial cell walls: the armor, artillery and Achilles heel. Infect Dis Clin Pract. 2006;14:309–317.

Brodell LA, Rosenthal KS. Skin structure and function: the body's primary defense against infection. Infect Dis Clin Pract. 2008;16:113–117.

Chagnot C, Listrat A, Astruc T, et al. Bacterial adhesion to animal tissues: protein determinants for recognition of extracellular matrix components. *Cell Microbiol.* 2012;14:1687–1696.

Cohen J, Powderly WC. Infectious diseases. ed 2 London: Mosby; 2004.

Desvaux M, Hebraud M, Henderson IR, et al. Type III secretion: what's in a name?. Trends Microbiol. 2006;14:157–160.

Finlay BB, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity revisited. Microbiol Mol Biol Rev. 1997;61:136-169.

Groisman EA, Ochman H. How Salmonella became a pathogen. Trends Microbiol. 1997;5:343–349.

Lee CA. Pathogenicity islands and the evolution of bacterial pathogens. Infect Agents Dis. 1996;5:1–7.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases. ed 6 Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005.

McClane BA, Mietzner TA. Microbial pathogenesis: a principles-oriented approach. Madison, Conn: Fence Creek; 1999.

Papageorgiou AC, Acharya KR. Microbial superantigens: from structure to function. Trends Microbiol. 2000;8:369–375.

Reading N, Sperandio V. Quorum sensing: the many languages of bacteria. FEMS Microbiol Lett. 2006;254:1-11.

Rosenthal KS. Are microbial symptoms "self-inflicted"? The consequences of immunopathology. Infect Dis Clin Pract. 2005;13:306–310.

Excelentes vídeos, elaborados em 2000 pelo Howard Hughes Medical Institute, sobre a ação do *E. coli e* do dispositivo de secreção do tipo III *da Salmonella* que promove adesão e crescimento intracelular podem ser vistos

em www.hhmi.org/biointeractive/disease/ecoli.html e www.hhmi.org/biointeractive/disease/salmonella.html. E o vídeo sobre os genes de virulência em *Salmonella*: www.youtube.com/watch?v=j5GvvQJVD_Y.

CAPÍTULO 15

O Papel das Bactérias nas Doenças

Este capítulo resume o material apresentado nos Capítulos 18 a 35, que focam os micro-organismos e as doenças que eles causam. Acreditamos que essa recapitulação é muito importante para a compreensão de como os organismos produzem doença, pois, quando um paciente desenvolve uma infecção, o médico sugere o diagnóstico por meio da avaliação do quadro clínico e de uma lista de organismos que são mais comumente associados à doença. A etiologia de algumas doenças pode ser atribuída a um único organismo (p.ex., o tétano — *Clostridium tetani*). Mais comum, no entanto, é o fato de múltiplos organismos poderem produzir um quadro clínico semelhante (p.ex., septicemia, pneumonia, gastroenterite, meningite). O manejo clínico das infecções é baseado na habilidade de desenvolver um diagnóstico diferencial preciso; ou seja, é imprescindível saber quais organismos são mais comumente associados ao processo infeccioso.

O desenvolvimento de uma infecção depende das complexas interações em termos de (1) suscetibilidade do hospedeiro à infecção, (2) potencial de virulência do organismo e (3) oportunidade para a interação entre o hospedeiro e o organismo. É impossível resumir em um único capítulo as complexas interações que conduzem ao desenvolvimento das doenças em cada sistema orgânico. Esse é um tema que requer textos detalhados sobre doenças infecciosas. Este capítulo, porém, fornece uma visão geral das bactérias comumente associadas a infecções em locais específicos do corpo e com manifestações clínicas específicas (Tabelas 15-1 a 15-5). Devido ao fato de que muitos fatores influenciam a frequência relativa com que organismos específicos causam doenças (p.ex., idade, doença de base, fatores epidemiológicos, imunidade do hospedeiro), não é feita nenhuma tentativa de definir todos os fatores associados à doença causada por organismos específicos. Esse material é fornecido, em parte, nos capítulos que se seguem e nos textos de doenças infecciosas. Além disso, o papel dos fungos, vírus e parasitas não é considerado aqui, mas sim nas últimas seções deste livro.

Resumo dos Principais Patógenos Bacterianos

Micro-organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Tratamento
Cocos Gram-positiv	os Aeróbios e Anaeróbios Fac	cultativos	
Enterococcus faecalis e Enterococcus faecium	Infecção do trato urinário, peritonite, bacteremia e endocardite	Pacientes idosos e aqueles que permaneceram hospitalizados por longos períodos e receberam antibióticos de amplo espectro	Penicilina/ampicilina ou vancomicina; combinada com gentamicina para endocardite ou infecções graves; linezolida, daptomicina, tigeciclina ou quinupristin/dalfopristin
Staphylococcus aureus	Infecções supurativas: impetigo, foliculite, furúnculos, carbúnculos, feridas Infecções disseminadas: bacteremia, endocardite, pneumonia, empiema, osteomielite séptica, artrite Infecções mediadas por toxinas: síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada, intoxicação alimentar	Coloniza a pele humana e as superfícies mucosas; sobrevive na superfície ambiental; capaz de crescer em extremos de temperatura e em altas concentrações de sal	Infecções localizadas: sulfametoxazol/trimetoprim, doxiciclina, clindamicina ou linezolida Infecções sistêmicas: oxacilina (se suscetível) ou vancomicina; daptomicina, tigeciclina ou linezolida
Staphylococcus coagulase- negativo	Infecções de feridas, infecções do trato urinário, infecções de cateter e de manuseio, infecções derivadas de dispositivo protético	Coloniza a pele humana e superfícies mucosas; sobrevive na superfície ambiental; capaz de crescer em temperaturas extremas	O mesmo para S. aureus
Streptococcus pyogenes (grupo A)	Infecções supurativas: faringite, escarlatina, sinusite, infecção de pele e tecidos moles (impetigo, erisipela, celulite, fascite necrotizante), síndrome semelhante ao choque tóxico; bacteremia Infecções não supurativas: febre reumática, glomerulonefrite	População diversa	Penicilina V, amoxicilina; macrolídeos, cefalosporinas, clindamicina, vancomicina; desbridamento cirúrgico para fascite necrotizante
Streptococcus agalactiae (grupo B)	Doença neonatal (início precoce, início tardio): bacteremia, pneumonia, meningite; endometrite pós-parto, infecção de ferida, pele e infecção de partes moles, infecções do trato urinário, pneumonia	Recém-nascidos; mulheres grávidas; pacientes com diabetes, câncer ou alcoolismo	Penicilinas, cefalosporinas e vancomicina
Streptococcus grupo viridans	Formação de abscesso; septicemia em pacientes neutropênicos; endocardite subaguda; infecções odontogênicas; cárie dentária	Pacientes com anormalidades em válvulas cardíacas; pacientes neutropênicos	Penicilinas; penicilina associada a aminoglicosídeo, cefalosporinas de amplo espectro e vancomicina
Streptococcus pneumoniae	Pneumonia, sinusite, otite média, meningite, bacteremia, endocardite, peritonite bacteriana espontânea, artrite séptica	Diversos: recém-nascidos, crianças, adultos com doenças crônicas, pessoas idosas	Penicilina; levofloxacina, cefalosporinas, clindamicina; cefalosporinas de amplo espectro, vancomicina
Bacilos Gram-positi	vos Aeróbicos ou Anaeróbico	s Facultativos	
Bacillus anthracis	Antraz: cutâneo, GI, por inalação	Trabalhadores que manejam animais; acidentes microbiológicos; bioterrorismo	Antraz cutâneo: amoxicilina Antraz por inalação: ciprofloxacina ou doxiciclina mais rifampicina, vancomicina, penicilina, imipenem, clindamicina ou claritromicina

Micro-organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Tratamento
Bacillus cereus	Envenenamento alimentar; infecções oculares; bacteremia; pneumonia	Alimentos contaminados; lesão ocular traumática com introdução de solo contaminado; usuário de drogas injetáveis	Intoxicação alimentar: tratamento sintomático Outras infecções: fluoroquinolonas ou vancomicina, clindamicina, gentamicina
Corynebacterium diphtheriae	Difteria: respiratória, cutânea	Disseminação por gotículas aspiradas por indivíduos não imunizados	Penicilina ou eritromicina para eliminar a bactéria e interromper a produção de toxina; imunização com toxoide diftérico
Corynebacterium jeikeium	Infecções oportunistas e bacteremias	Pacientes imunocomprometidos apresentam maior risco	Vancomicina
Corynebacterium urealyticum	Infecções do trato urinário, incluindo pielonefrite com cálculo; bacteremia	Os fatores de risco incluem imunossupressão, doença geniturinária subjacente, procedimentos urológicos anteriores, terapia prévia com antibióticos	Vancomicina
Erysipelothrix rhusiopathiae	Erisipeloide (lesões localizadas da pele); infecção cutânea generalizada; septicemia	Doença ocupacional de açougueiros, processadores de carnes, fazendeiros, manipuladores de frango e peixes, bem como veterinários	Infecção localizada: penicilina, ciprofloxacina, clindamicina Infecção disseminada: ceftriaxona, imipenem
Listeria monocytogenes	Doença neonatal de início precoce: granulomatose séptica infantil Doença neonatal de início tardio: meningite com septicemia; doença semelhante à gripe em adultos; bacteremia ou doença disseminada em mulheres grávidas ou pacientes com disfunção na resposta imune mediada por células; meningite	Pacientes imunodeprimidos, idosos, recém-nascidos, mulheres grávidas; ingestão de alimentos contaminados	Gentamicina mais penicilina ou ampicilina
Bactérias Álcool-Aci	dorresistentes		
Complexo Mycobacterium avium	Doença pulmonar localizada; doença disseminada com envolvimento de múltiplos órgãos	Doença localizada em pacientes com doença pulmonar crônica, doença disseminada em pacientes com AIDS e outros pacientes imunocomprometidos	Claritromicina ou azitromicina combinada com rifabutina ou etambutol
Mycobacterium leprae	Hanseníase: forma tuberculoide ou forma lepromatosa	O contato direto com indivíduo infectado é a causa mais provável de disseminação	Dapsona e rifampicina para a forma tuberculoide; adicionar clofazimina para a forma lepromatosa
Complexo Mycobacterium tuberculosis	Tuberculose: pulmonar e extrapulmonar	Todas as idades, com os pacientes infectados por HIV sob maior risco de doença ativa	Terapia múltipla com isoniazida (INH), rifampicina, etambutol e pirazinamida, seguida da INH mais rifampicina; cepas multirresistentes
Nocardia	Doença broncopulmonar; abscesso cerebral; infecções cutâneas primárias ou secundárias: micetoma, infecção linfocutânea, celulite, abscesso subcutâneo	Patógeno oportunista em pacientes imunocompetentes com doença pulmonar crônica ou em pacientes imunocomprometidos com deficiência nas células T	Sulfametoxazol-trimetoprim para infecção cutânea em pacientes imunocompetentes; adicionar amicacina, imipenem ou cefalosporina de amplo espectro para infecção disseminada ou em pacientes imunocomprometidos

Micro-organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Tratamento
Rhodococcus equi	Doença broncopulmonar; infecções oportunistas em pacientes imunocompetentes	Patógeno mais comumente encontrado em pacientes imunocomprometidos (p.ex., pacientes com AIDS e transplantados)	Terapia combinada com vancomicina, carbapenêmicos, aminoglicosídeos, ciprofloxacina, rifampicina
Cocos Gram-negativ	vos Aeróbicos		
Neisseria gonorrhoeae	Gonorreia, artrite séptica; doença inflamatória pélvica, peri- hepatite; septicemia	Sexualmente transmitida, portador assintomático	Ceftriaxona associada com azitromicina ou doxiciclina
Neisseria meningitidis	Meningite, bacteremia (meningococcemia); pneumonia; artrite e uretrite	Estado de portador, transmissão por aerossol, mais comum em crianças e adultos jovens	Ceftriaxona ou cefotaxima
Bacilos Gram-negat	ivos Aeróbicos e Anaeróbicos	Facultativos	
Acinetobacter	Infecções oportunistas: pneumonia, septicemia, infecções do trato urinário, infecção de ferida	Infecções nosocomiais	Imipenem ou ceftazidima combinado com aminoglicosídeos para infecções graves; resistência a multidrogas cada vez mais comum
Aeromonas	Infecções em feridas; gastroenterite	Pacientes saudáveis e imunocomprometidos	Ciprofloxacina; sulfametoxazol/trimetoprim, gentamicina ou amicacina como terapia alternativa
Bartonella bacilliformis	Doença de Carrión (febre Oroaya) + "verruga peruana"	Picada de mosquito infectado	Cloranfenicol + penicilina
Bartonella henselae	Angiomatose bacilar (AB); endocardite subaguda; doença da arranhadura do gato (DAG)	Pacientes saudáveis (endocardite, DAG) e imunocomprometidos (AB)	Azitromicina; eritromicina ou doxiciclina
Bartonella quintana	Febre das trincheiras (FT); AB; endocardite subaguda	Pacientes saudáveis (FT, endocardite) ou imunocomprometidos (AB)	Azitromicina; eritromicina ou doxiciclina
Bordetella pertussis, Bordetella parapertussis	Coqueluche (tosse convulsa)	Transmissão por aerossol; doença severa em crianças, moderada em adultos	Terapia de suporte com eritromicina (ou outro macrolídeo) para diminuir a infectividade; azitromicina para profilaxia dos contatos
Brucella	Brucelose	Exposição a caprinos, ovinos, bovinos ou outros animais infectados; bioterrorismo	Doxiciclina mais rifampicina; sulfametoxazol-trimetoprim
Complexo Burkholderia cepacia	Infecções pulmonares; infecções oportunistas	Indivíduos comprometidos, especialmente pacientes com fibrose cística e doença granulomatosa crônica	Sulfametoxazol-trimetoprim; piperacilina, ceftazidima ou ciprofloxacina como terapia alternativa se houver resistência a sulfametoxazol-trimetoprim
Burkholderia pseudomallei	Meliodose (doença pulmonar assintomática a severa)	Patógeno oportunista	Sulfametoxazol-trimetoprim + ceftazidima
Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, Campylobacter upsaliensis	Gastroenterite	Infecção zoonótica após ingestão de alimento, leite ou água contaminados	Autolimitada; infecções severas tratar com azitromicina; tetraciclina ou fluoroquinolonas utilizadas como terapia alternativa
Campylobacter fetus	Septicemia; meningite; gastroenterite; aborto espontâneo	Infecções de pacientes idosos, imunocomprometidos	Aminoglicosídeos, carbapenêmicos, cloranfenicol

Micro-organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Tratamento
Cardiobacterium hominis	Endocardite subaguda	Patógeno oportunista em pacientes com válvula cardíaca previamente danificada	Penicilina ou ampicilina
Eikenella corrodens	Endocardite subaguda; infecção de feridas	Ferida por mordida humana; patógeno oportunista em pacientes com válvula cardíaca previamente danificada	Penicilina, cefalosporinas, tetraciclinas ou fluoroquinolonas
Escherichia coli: enteropatogênica (EPEC)	Diarreia aquosa e vômitos	Crianças em países em desenvolvimento	Desconhecido
E. coli: produtora de toxina Shiga (STEC)	Diarreia aquosa, colite hemorrágica, síndrome hemolítico-urêmica	Surtos por alimentos ou água em países desenvolvidos	Antibióticos são contraindicados
E. coli: enterotoxigênica (ETEC)	Diarreia aquosa	Diarreia infantil em países em desenvolvimento; diarreia do viajante	Ciprofloxacina reduz a duração da doença (alto nível de resistência)
E. coli: enteroagregativa (EAEC)	Diarreia com muco	Diarreia infantil	Fluoroquinolonas em pacientes com AIDS
E. coli: enteroinvasiva (EIEC)	Diarreia aquosa, colite hemorrágica	Diarreia infantil em países em desenvolvimento	Antibióticos reduzem a duração da doença e a infectividade
E. coli: uropatogênica	Cistite, pielonefrite	Mulheres sexualmente ativas	Sulfametoxazol-trimetoprim, fluoroquinolonas
E. coli associada à meningite	Meningite aguda	Recém-nascidos	Cefalosporinas de amplo espectro
Francisella tularensis	Tularemia: ulceroglandular, oculoglandular, pneumônica	Picada de carrapatos; exposição a coelhos infectados; bioterrorismo	Doxicilina ou ciprofloxacina para infecções leves; adicionar gentamicina para infecções graves
Haemophilus influenzae	Cepas encapsuladas do tipo b: meningite, septicemia, celulite, epiglotite Cepas não encapsuladas: otite média, sinusite, bronquite, pneumonia	Transmissão por aerossóis em jovens, crianças não imunizadas; propagação pelo trato respiratório superior em pacientes idosos com doença respiratória crônica	Cefalosporinas de amplo espectro, azitromicina ou fluoroquinolona; muitas cepas resistentes à ampicilina
Helicobacter pylori	Gastrite, úlceras péptica e duodenal; adenocarcinoma gástrico	Infecções comuns, especialmente em pessoas de classe socioeconômica baixa ou países em desenvolvimento	Terapia combinada: omeprazol + amoxicilina + claritromicina
Kingella kingae	Endocardite subaguda	Patógeno oportunista em pacientes com válvula cardíaca previamente danificada	β -lactâmicos com inibidor de β -lactamase, cefalosporinas, macrolídeos, tetraciclina, fluoroquinolonas
Klebsiella pneumoniae	Pneumonia, infecções do trato urinário	Infecções nosocomiais; alcoolismo	Cefalosporinas, fluoroquinolonas
Legionella pneumophila	Doença dos legionários (pneumonia), febre de Pontiac (doença semelhante à gripe)	Associada à transmissão pela água contaminada; pessoas idosas e pacientes imunocomprometidos	Macrolídeos (eritromicina, azitromicina, claritromicina); fluoroquinolonas utilizadas como terapia alternativa
Moraxella catarrhalis	Broncopneumonia, infecção auricular e ocular	Crianças; pacientes com comprometimento do sistema pulmonar	Cefalosporinas; amoxicilina/ácido clavulânico

Micro-organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Tratamento
Proteus mirabilis	Infecções do trato urinário, infecções de feridas	Anormalidade anatômica do trato urinário	Amoxicilina, sulfametoxazol-trimetoprim, cefalosporinas, fluoroquinolonas
Pseudomonas aeruginosa	Pulmonar; infecção primária de pele e tecidos moles: queimaduras, foliculite, osteocondrite, infecção do trato urinário; infecções de ouvidos ou olhos; bacteremia, endocardite	Infecções nosocomiais	Geralmente requer terapia combinada (p.ex., aminoglicosídeos com cefalosporinas de amplo espectro, piperacilina-tazobactam ou carbapenêmicos)
Salmonella enterica	Diarreia, febre entérica (sorovar <i>Typhi</i>)	Alimentos contaminados; pacientes imunocomprometidos têm maior risco para bacteremia	O tratamento para diarreia simples pode prolongar o estado de portador; fluoroquinolonas para febre entérica
Serratia, Enterobacter	Pneumonia, infecções do trato urinário, infecções de feridas	Infecções nosocomiais	Carbapenêmicos; piperacilina-tazobactam
Shigella	Disenteria bacilar	Alimentos ou água contaminados, disseminação pessoa a pessoa	Ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim- fluoroquinolonas
Stenotrophomonas maltophilia	Ampla variedade de infecções locais e sistêmicas	Infecções nosocomiais	Sulfametoxazol-trimetoprim, doxicilina ou ceftazidima como alternativa
Streptobacillus moniliformis	Febre da mordedura do rato; febre de "Haverhill"	Mordedura de rato ou outros roedores pequenos; ingestão de alimentos ou água contaminados	Penicilina; tetraciclina
Vibrio cholerae	Diarreia aquosa severa, septicemia	Crianças e adultos em países em desenvolvimento	Reidratação; azitromicina; doxiciclina ou ciprofloxacina como alternativa
Vibrio parahaemolyticus	Diarreia aquosa, infecção de feridas	Surtos causados pela ingestão de frutos do mar	Reidratação para diarreia; doxiciclina + ceftriaxona para infecção de feridas
Vibrio vulnificus	Infecção de feridas; septicemia primária	Indivíduos com comprometimento com doença hepática preexistente ou crônica	Minociclina ou doxiciclina + ceftriaxona ou cefotaxima
Anaeróbios			
Actinomyces	Actinomicose: cervicofacial, torácica, abdominal, pélvica, sistema nervoso central	Coloniza a superfície de mucosas humanas (orofaringe, intestino, vagina)	Desbridamento cirúrgico; penicilina; carbapenêmicos, macrolídeos ou clindamicina como fármacos alternativos
Bacteroides fragilis	Infecções polimicrobianas de abdome, trato genital feminino, pele e tecidos moles	Microbiota normal do trato GI	Metronidazol; carbapenêmicos, piperacilina/tazobactam
Clostridium botulinum	Botulismo: alimentar, infantil, de ferida	Encontrado no ambiente (p.ex., solo, água, esgotos) e no trato GI de seres humanos e animais	Suporte ventilatório + metronidazol ou penicilina + antitoxina botulínica trivalente
Clostridium difficile	Diarreia associada à antibioticoterapia; colite pseudomembranosa	Coloniza o trato GI humano e trato genital feminino; contaminante do ambiente hospitalar; utilização prévia de antibiótico	Descontinuação de antibiótico envolvido; metronidazol ou vancomicina

Micro-organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Tratamento
Clostridium perfringens	Infecção de tecidos moles: celulite, miosite, mionecrosite, mionecrose, intoxicação alimentar, enterite necrótica, septicemia	Encontrado no ambiente (p.ex., solo, água, esgotos) e no trato GI de seres humanos e animais	Desbridamento cirúrgico + penicilina
Clostridium tetani	Tétano: generalizado, localizado, neonatal	Encontrado no ambiente (p.ex., solo, água, esgotos) e no trato GI de seres humanos e animais	Desbridamento cirúrgico + penicilina ou metronidazol + vacinação com toxoide tetânico + imunização passiva
Propionibacterium acne	Acne; infecções oportunistas (p.ex., em cateteres, <i>shunts</i> e outros dispositivos invasivos)	Coloniza a pele humana e as superfícies das mucosas	Tratamento da acne com peróxido de benzoíl + clindamicina ou eritromicina
Anaplasma, Ehrlich	ia, Rickettsia, Coxiella, Chlan	ıydia e Chlamydophila	
Anaplasma phagocytophilum	Anaplasmose (erliquiose granulocítica)	Transmitido por mordida de carrapato (<i>Ixodes</i>)	Doxiciclina; rifampicina utilizada como terapia alternativa
Chlamydia trachomatis	Tracoma, conjuntivite neonatal e pneumonia; uretrite, cervicite, proctite, salpingite, linfogranuloma venéreo	Tracoma em países em desenvolvimento; exposição a secreção infectada durante o contato sexual ou nascimento	Doxiciclina, eritromicina ou azitromicina; fluoroquinolonas
Chlamydophila pneumoniae	Pneumonia, doença cardiovascular (?)	Crianças e adultos jovens	Macrolídeos; doxiciclina, levofloxacina
Chlamydophila psittaci	Pneumonia	Exposição a aves e suas secreções	Doxiciclina ou macrolídeos
Coxiella burnetii	Febre Q: aguda (febre, cefaleia, arrepios, mialgias, hepatite granulomatosa) e crônica (endocardite, disfunção hepática)	Pessoas expostas a animais infectados; primariamente adquirida por inalação; relativamente incomum nos Estados Unidos	Doença aguda: doxiciclina Doença crônica: doxiciclina + hidrocloroquina; fluoroquinolona usada como alternativa a doxiciclina
Ehrlichia chaffeensis	Erliquiose monocítica	Transmissão por mordida de carrapato (<i>Amblyomma</i>)	Doxiciclina; rifampicina utilizada como terapia alternativa
Mycoplasma pneumoniae	Traqueobronquite; faringite; pneumonia atípica	Doença sintomática mais comum em crianças que adultos; doença grave em pacientes com hipogamaglobulinemia	Eritromicina, doxiciclina, fluoroquinolonas
Rickettsia rickettsii	Febre maculosa das Montanhas Rochosas	Mais predominante em andarilhos e outras pessoas que passam muito tempo ao ar livre; transmissão por mordida de carrapato (Dermacentor nos Estados Unidos)	Doxiciclina; fluoroquinolonas utilizadas como terapia alternativa
Espiroquetas			
Borrelia burgdorferi, B. garinii, B. afzelii			Inicial: amoxicilina, doxiciclina e cefuroxima; tardia: ceftriaxona, cefotaxima ou penicilina G
Borrelia recurrentis	Febre recorrente epidêmica	Transmitida pelo piolho do corpo humano; nenhum hospedeiro animal	Tetraciclinas; penicilina

Micro-organismo	Características Clínicas	Características Epidemiológicas	Tratamento
Borrelia spp.	Febre recorrente endêmica	Transmissão por mordida de carrapatos (<i>Ornithodoros</i>); roedores e pequenos mamíferos são reservatórios	Tetraciclinas; penicilina
Leptospira interrogans	Leptospirose: da doença branda, semelhante à viral, à doença severa de múltiplos órgãos (síndrome de Weil)	Transmissão por exposição à urina ou tecidos de roedores infectados, cães, animais de fazenda, animais selvagens	Penicilina; doxiciclina
Treponema pallidum	Sífilis: primária, secundária, terciária, congênita	Transmissão congênita ou por contato sexual	Penicilina; doxiciclina ou azitromicina como terapia alternativa

AAF, Fímbria de adesão agregativa; AIDS, síndrome da imunodeficiência adquirida; EAEC, E. coli enteroagregativa; STEC, E. coli produtora de toxina Shiga; EIEC, E. coli enteroinvasiva; EPEC, E. coli enteropatogênica; ETEC, E. coli enterotoxigênica; GI, gastrointestinal; HIV, vírus da imunodeficiência humana.



Resumo das Doenças Bacterianas

Sistema Afetado	Patógenos
Infecções do T	Trato Respiratório Superior
Faringite	Streptococcus pyogenes, Neisseria gonorrhoeae, Streptococcus do grupo C, Arcanobacterium haemolyticum, Chlamydophila pneumoniae, Corynebacterium diphtheriae, Corynebacterium ulcerans, Mycoplasma pneumoniae, Francisella tularensis
Sinusite	Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, mistura de anaeróbios e aeróbios, Staphylococcus aureus, Streptococcus do grupo A, Chlamydophila pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa e outros bacilos Gram-negativos
Epiglotite	Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus
Infecções Aur	iculares
Otite externa	Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus do grupo A
Otite média	Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Staphylococcus aureus, Streptococcus do grupo A, mistura de anaeróbios e aeróbios
Infecções Ocu	lares
Conjuntivite	Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus aegyptius, Neisseria gonorrhoeae, Pseudomonas aeruginosa, Francisella tularensis, Chlamydia trachomatis
Ceratite	Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus do grupo A, Proteus mirabilis e outras enterobactérias, espécies de Bacillus, Neisseria gonorrhoeae
Endoftalmite	Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus coagulase-negativo, espécies de Propionibacterium e de Corynebacterium
Infecção Brôn	quica e Pleuropulmonar
Bronquite	Moraxella catarrhalis, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Bordetella pertussis, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae
Empiema	Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus do grupo A, Bacteroides fragilis, Klebsiella pneumoniae e outras enterobactérias, espécies de Actinomyces, espécies de Nocardia, Mycobacterium tuberculosis e outras espécies
Pneumonia	Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, outras enterobactérias, Moraxella catarrhalis, Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae, Chlamydophila psittaci, Pseudomonas aeruginosa, espécies de Burkholderia e de Legionella, Francisella tularensis, Bacteroides fragilis, espécies de Nocardia, Rhodococcus equi, Mycobacterium tuberculosis e outras espécies, Coxiella burnetii, Rickettsia rickettsii, muitas outras espécies
Infecções do T	Trato Urinário
Cistite e pielonefrite	Escherichia coli, Proteus mirabilis, outras enterobactérias, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus do grupo B, espécies de Enterococcus, Aerococcus urinae, Mycobacterium tuberculosis
Cálculo renal	Proteus mirabilis, Morganella morganii, Klebsiella pneumoniae, Corynebacterium urealyticum, Staphylococcus saprophyticus, Ureaplasma urealyticum
Abscesso renal	Staphylococcus aureus, mistura de aeróbios e anaeróbios, Mycobacterium tuberculosis
Prostatite	Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, outras enterobactérias, espécies de Enterococcus, Neisseria gonorrhoeae, Mycobacterium tuberculosis e outras espécies
Infecções Intr	a-abdominais
Peritonite	Escherichia coli, Bacteroides fragilis e outras espécies, espécies de Enterococcus, Klebsiella pneumoniae, outras enterobactérias, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, espécies de Fusobacterium, espécies de Clostridium e de Peptostreptococcus, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycobacterium tuberculosis
Peritonite associada à diálise	Staphylococcus coagulase-negativo, Staphylococcus aureus, espécies de Streptococcus, Corynebacterium e de Propionibacterium, Escherichia coli e outras enterobactérias, Pseudomonas aeruginosa, espécies de Acinetobacter

Sistema Afetado	Patógenos
Infecções Card	liovasculares
Endocardite	Streptococcus do grupo viridans, Staphylococcus coagulase-negativo, Staphylococcus aureus, espécies de Aggregatibacter Cardiobacter hominis, Eikenella corrodens, Kingella kingii, Streptococcus pneumoniae, espécies de Abiotrophia, Rothia mucilaginosa, espécies de Enterococcus e Bartonella, Coxiella burnetii, espécies de Brucella, Erysipelothrix rhusiopathiae, Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, espécies de Corynebacterium e de Propionibacterium
Miocardite	Staphylococcus aureus, Corynebacterium diphtheriae, Clostridium perfringens, Streptococcus do grupo A, Borrelia burgdorferi Neisseria meningitidis, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae, Chlamydophila psittaci, Rickettsia rickettsii, Orientia tsutsugamushi
Pericardite	Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Mycoplasma pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis e outras espécies
Sepses	
Sepse em geral	Staphylococcus aureus, Staphylococcus coagulase-negativo, Escherichia coli, espécies de Klebsiella e de Enterobacter, Proteus mirabilis, outras enterobactérias, Streptococcus pneumoniae e outras espécies, espécies de Enterococcus, Pseudomonas aeruginosa, muitas outras bactérias
Sepse associada à transfusão	Staphylococcus coagulase-negativo, Staphylococcus aureus, Yersinia enterocolitica, Pseudomonas grupo fluorescens, espécies de Salmonella, outras enterobactérias, Campylobacter jejuni e outras espécies, Bacillus cereus e outras espécies
Tromboflebite séptica	Staphylococcus aureus, Bacteroides fragilis, espécies de Klebsiella e Enterobacter, Pseudomonas aeruginosa, espécies de Fusobacterium, Campylobacter fetus
Infecções no S	istema Nervoso Central
Meningite	Streptococcus do grupo B, Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, Listeria monocytogenes, Haemophilus influenzae, Escherichia coli, outras enterobactérias, Staphylococcus aureus, Staphylococcus coagulase-negativo, espécies de Propionibacterium e de Nocardia, Mycobacterium tuberculosis e outras espécies Borrelia burgdorferi, espécies de Leptospira, Treponema pallidum, espécies de Brucella
Encefalite	Listeria monocytogenes, Treponema pallidum, espécies de Leptospira, Actinomyces, Nocardia e de Borrelia, Rickettsia rickettsii, Coxiella burnetii, Mycoplasma pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis e outras espécies
Abscesso cerebral	Staphylococcus aureus, espécies de Fusobacterium, Peptostreptococcus, outros cocos anaeróbios, Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus do grupo viridans, espécies de Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas e de Actinomyces, Clostridium perfringens, Listeria monocytogenes, espécies de Nocardia, Rhodococcus equi, Mycobacterium tuberculosis e outras espécies
Empiema subdural	Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus do grupo B, Neisseria meningitidis, mistura de anaeróbios e aeróbios
Infecções de P	ele e Tecidos Moles
Impetigo	Streptococcus do grupo A, Staphylococcus aureus
Foliculite	Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa
Furúnculos e carbúnculos	Staphylococcus aureus
Paroniquia	Staphylococcus aureus, Streptococcus do grupo A, Pseudomonas aeruginosa
Erisipela	Streptococcus do grupo A
Celulites	Streptococcus do grupo A, Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, muitas outras bactérias
Celulite necrotizante e fascite	Streptococcus do grupo A, Clostridium perfringens e outras espécies, Bacteroides fragilis, outros anaeróbios, Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa
Angiomatose bacilar	Bartonella henselae, Bartonella Quintana
Infecção de queimaduras	Pseudomonas aeruginosa, espécies de Enterobacter e de Enterococcus, Staphylococcus aureus, Streptococcus do grupo A, muitas outras bactérias
Feridas por mordidas	Eikenella corrodens, Pasteurella multocida, Pasteurella canis, Staphylococcus aureus, Streptococcus do grupo A, mistura de anaeróbios e aeróbios, vários bacilos Gram-negativos
Feridas cirúrgicas	Staphylococcus aureus, Staphylococcus coagulase-negativo, estreptococos dos grupos A e B, Clostridium perfringens, espécies de Corynebacterium, muitas outras bactérias
Feridas de traumas	Espécies de Bacillus, Staphylococcus aureus, Streptococcus do grupo A, vários bacilos Gram-negativos, micobactérias d crescimento rápido

Sistema Afetado	Patógenos			
Infecção Gasti	cointestinal			
Gastrite	Helicobacter pylori			
Gastroenterite	Espécies de Salmonella e Shigella Campylobacter jejuni e coli, Escherichia coli (STEC, EIEC, EHEC, EPEC, EAggEC), Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Bacillus cereus, Yersinia enterocolitica, Edwardsiella tarda, Pseudomonas aeruginosa, espécies de Aeromonas, Plesiomonas shigelloides, Bacteroides fragilis, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Clostridium difficile			
Intoxicação alimentar	Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens			
Proctite	Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Treponema pallidum			
Infecções Ósso	eas e Articulares			
Osteomielite	Staphylococcus aureus, espécies de Salmonella, Mycobacterium tuberculosis, Streptococcus β-hemolíticos, Streptococcus pneumoniae, Escherichia coli, outras enterobactérias, Pseudomonas aeruginosa, muitas bactérias menos comuns			
Artrite	Staphylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae, Streptococcus pneumoniae, espécies de Salmonella, Pasteurella multocida, espécies de Mycobacterium			
Infecção associada a próteses	Staphylococcus aureus, Staphylococcus coagulase-negativo, Streptococcus do grupo A, Streptococcus do grupo viridans, espécies de Corynebacterium, Propionibacterium, e de Peptostreptococcus, outros cocos anaeróbios			
Infecções Gen	itais			
Úlcera genital	Treponema pallidum, Haemophilus ducreyi, Chlamydia trachomatis, Francisella tularensis, Klebsiella granulomatis, Mycobacterium tuberculosis			
Uretrite	Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium, Ureaplasma urealyticum			
Vaginite	Mycoplasma hominis, espécies de Mobiluncus, outras espécies anaeróbicas, Gardnerella vaginalis			
Cervicite	Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium, Neisseria meningitidis, Streptococcus do grupo B, Mycobacterium tuberculosis, espécies de Actinomyces			
Infecção Gran	ulomatosa			
Geral	Mycobacterium tuberculosis e outras espécies, espécies de Nocardia, Treponema pallidum, espécies de Brucella, Francisella tularensis, Listeria monocytogenes, Burkholderia pseudomallei, espécies de Actinomyces, Bartonella henselae, Tropheryma whippelii, Chlamydia trachomatis, Coxiella burnetii			

Micro-organismos em negrito são os patógenos mais comuns.

EIEC, E. coli enteroinvasiva; EPEC, E. coli enteropatogênica; ETEC, E. coli enterotoxigênica; EAggEC, E. coli enteroagregativa; STEC, E. coli produtora de toxina Shiga (enterro-hemorrágica).



Bactérias Associadas a Doenças Transmitidas por Alimentos

Micro-organismo	Alimento(s) Associado(s)		
Espécies de Aeromonas	Carnes, produtos industrializados, produtos lácteos		
Bacillus cereus	Arroz frito, carnes, legumes		
Brucella	Produtos lácteos não pasteurizados, carnes		
Espécies de Campylobacter	Aves, produtos lácteos não pasteurizados		
Clostridium botulinum	Legumes, frutas, peixes, mel		
Clostridium perfringens	Carne bovina, aves, carne de porco, molho		
Escherichia coli	Carne, leite não pasteurizado, frutas e sucos, vegetais, alface		
Francisella tularensis	Carne de coelho		
Listeria monocytogenes	Produtos lácteos não pasteurizados, salada de repolho, aves, cortes de carnes frias		
Plesiomonas shigelloides	Frutos do mar		
Espécies de Salmonella	Aves, produtos lácteos não pasteurizados		
Espécies de Shigella	Ovos, alface		
Staphylococcus aureus	Presunto, aves, pratos à base de ovos, bolos		
Streptococcus do grupo A	Pratos à base de ovos		
Espécies de Vibrio	Marisco		
Yersinia enterocolitica	Produtos lácteos não pasteurizados, carne de porco		

Micro-organismos em negrito são os patógenos mais comuns.



Tabela 15-4

Bactérias Associadas a Doenças Transmitidas pela Água

Micro-organismo	Doença		
Espécies de Aeromonas	Gastroenterite, infecção de ferida e septicemia		
Espécies de Campylobacter	Gastroenterite		
Escherichia coli	Gastroenterite		
Francisella tularensis	Tularemia		
Espécies de Legionella	Doença respiratória		
Espécies de Leptospira	Doença sistêmica		
Mycobacterium marinum	Infecção cutânea		
Plesiomonas shigelloides	Gastroenterite		
Espécies de Pseudomonas	Dermatite		
Espécies de Salmonella	Gastroenterite		
Espécies de Shigella	Gastroenterite		
Espécies de Vibrio	Gastroenterite, infecção de ferida e septicemia		
Yersinia enterocolitica	Gastroenterite		

Micro-organismos em negrito são os patógenos mais comuns.



Doenças Transmitidas por Artrópodes

Artrópode	Micro-organismo	Doença
Carrapato	Anaplasma phagocytophilum	Anaplasmose humana (originalmente denominada de Ehrlichiose granulocítica humana)
	Borrelia afzelii	Doença de Lyme
	Borrelia burgdorferi	Doença de Lyme
	Borrelia garinii	Doença de Lyme
	Borrelia, outras espécies	Febre recorrente endêmica
	Coxiella burnetii	Febre Q
	Ehrlichia chaffeensis	Ehrlichiose monocítica humana
	Ehrlichia ewingii	Ehrlichiose granulocítica canina (humana)
Francisella tularensis		Tularemia
	Rickettsia rickettsii	Febre maculosa das Montanhas Rochosas
Pulga	Rickettsia prowazekii	Tifo esporádico
	Rickettsia typhi	Tifo murino
	Yersinia pestis	Peste (praga)
Piolho	Bartonella quintana	Febre de trincheira
	Borrelia recurrentis	Febre recorrente epidêmica
	Rickettsia prowazekii	Tifo epidêmico
Ácaro	Orientia tsutsugamushi	Tifo do mato
	Rickettsia akari	Rickettsialpox
Mosquito	Bartonella bacilliformis	Bartonelose (doença de Carrión)

As Tabelas 15-1 e 15-2 ilustram a complexidade de resumir o papel da bactéria em doenças infecciosas. Simplificando, a Tabela 15-1 é uma lista de bactérias e doenças por elas causadas, e a Tabela 15-2 é uma lista de doenças e bactérias associadas às doenças. Infelizmente, nenhuma das listas é compreensiva; mais doenças estão associadas a muitas das bactérias, e a lista de bactérias responsáveis pela maior parte das doenças não está completa. Essas duas tabelas representam diferentes abordagens para a compreensão do papel das bactérias na doença infecciosa. A abordagem global adotada neste livro é estudar os organismos, aprendendo a sua biologia no contexto da sua capacidade de causar doença. Adotamos essa abordagem tradicional porque sentimos que ela fornece uma base para o aluno compreender o processo da doença. No entanto, reconhecemos que o paciente se apresenta com uma síndrome da doença, e o estudante deve lembrarse de que organismos podem ser responsáveis. Por essa razão, a Tabela 15-2 é apresentada. Nesta edição do *Microbiologia Médica*, estamos usando estes capítulos de resumo para introduzir as discussões de bactérias, vírus, fungos e parasitas. Reconhecemos que discussões de um grande grupo de organismos podem ser confusas para muitos estudantes quando eles iniciam seus estudos em microbiologia. Esperamos que a utilização destes capítulos, como uma introdução, possa proporcionar aos alunos um formato útil para catalogar a variedade de organismos responsáveis por doenças semelhantes.

Referências Bibliográficas

Borriello P, Murray P, Funke G. Topley & Wilson's microbiology and microbial infections: bacteriology. *ed 10*. London: Hodder; 2005. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, et al. *Harrison's principles of internal medicine*. ed 18 New York: McGraw-Hill; 2011. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases*. ed 7 New York: Churchill Livingstone; 2009. Murray P, Shea Y. *Pocket guide to clinical microbiology*. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2004. Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

CAPÍTULO 16

Diagnóstico Laboratorial das Doenças Bacterianas

O diagnóstico laboratorial de doenças bacterianas exige a coleta apropriada do material clínico, que o mesmo seja entregue rapidamente para o laboratório em sistema de transporte adequado, e processado de modo a maximizar a detecção dos agentes patogênicos mais prováveis. A coleta da amostra adequada e a sua rápida entrega ao laboratório clínico são de responsabilidade do médico do paciente, enquanto o microbiologista clínico seleciona os sistemas de transporte adequados e o método de detecção (i.e., microscopia, cultura, pesquisa de antígeno ou anticorpo, testes baseados na detecção de ácido nucleico). Essas responsabilidades não são mutuamente exclusivas. O microbiologista deve estar preparado para instruir o médico sobre quais materiais devem ser coletados se um diagnóstico específico é suspeito, e o médico deve fornecer ao microbiologista informações sobre o diagnóstico clínico de modo que os testes corretos possam ser selecionados. Este capítulo destina-se a fornecer uma visão geral da coleta de amostras e transporte, bem como dos métodos utilizados no laboratório de microbiologia para a detecção e identificação de bactérias. Já que está fora do âmbito deste capítulo cobrir esse assunto exaustivamente, ao aluno é recomendada a leitura das citações na bibliografia e dos capítulos individuais que se seguem para obter informações mais detalhadas.

Material Clínico, Transporte e Processamento

As orientações para a coleta adequada e transporte de amostras estão resumidas no texto que se segue e na Tabela 16-1.

Materiais Clínicos para Identificação de Patógenos Bacterianos

Material	Sistema de Transporte	Volume de Material	Outras Considerações
Sangue: cultura bacteriana de rotina	Frasco de hemocultura com meio nutritivo	Adultos: 20 mL/cultura Crianças: 5–10 mL/cultura Recém-nascidos: 1 mL/cultura	A pele deve ser desinfectada com álcool a 70%, seguido de 0,5%–2% clorexidina; 2–3 culturas colhidas para cada evento séptico; o sangue é dividido igualmente em dois frascos de meio nutriente
Sangue: pesquisa de bactéria intracelular (p.ex., Brucella, Francisella, Neisseria spp.)	Frasco de hemocultura com sistema de lise- centrifugação	Adultos: 20 mL/cultura Crianças: 5–10 mL/cultura Recém-nascidos: 1–2 mL/cultura	As mesmas considerações para cultura de sangue de rotina; liberação de bactérias intracelulares pode aumentar a recuperação dos organismos; <i>Neisseria</i> spp. é inibida pelos anticoagulantes (polianetoessulfonato de sódio)
Sangue: <i>Leptospira</i> sp.	Tubo heparinizado estéril	1–5 mL	O material é útil somente na primeira semana da doença; após isso, a urina deve ser usada para cultura
Líquido cefalorraquidiano	Tubo estéril com tampa de rosca	Cultura bacteriana: 1– 5 mL Cultura de micobactérias: o maior volume possível	O material deve ser coletado e levado imediatamente ao laboratório; não deve ser exposto ao calor nem à refrigeração
Outros líquidos estéreis (p.ex., líquidos abdominal, pleural, sinovial, pericárdico)	Volume pequeno: tubo estéril com tampa de rosca Volume grande: frasco de hemocultura com meio nutritivo	O maior volume possível	O material deve ser coletado com agulha e seringa; <i>swab</i> não deve ser usado, pois a quantidade de material coletado é inadequada; ar não deve ser injetado no frasco de coleta, pois inibirá o crescimento de anaeróbios
Cateter	Tubo estéril com tampa de rosca ou frasco de coleta de material	N/A	O local de inserção deve ser desinfectado com álcool; o cateter deve ser assepticamente removido para ser recebido no laboratório; o cateter é rolado em placa de ágar-sangue e, em seguida, descartado.
Respiratório: garganta	Swab em meio de transporte	N/A	A área da inflamação deve ser esfregada com o <i>swab</i> ; exsudato deve ser coletado se estiver presente; contato com a saliva deve ser evitado, pois isso pode inibir a recuperação de estreptococos do grupo A
Respiratório: epiglote	Coleta de sangue para cultura	O mesmo quando para cultura de sangue	Coleta com swab pode desencadear o fechamento completo das vias aéreas; cultura de sangue deve ser realizada para o diagnóstico específico
Respiratório: seios da face	Tubo anaeróbio estéril ou frasco pequeno	1–5 mL	O material deve ser coletado com seringa e agulha; cultura de orofaringe e nasofaringe não tem valor; o material pode ser cultivado para bactérias aeróbias e anaeróbias

Material	Sistema de Transporte	Volume de Material	Outras Considerações
Respiratório: trato inferior	Tubo estéril com tampa de rosca, tubo anaeróbio ou frasco pequeno; somente para evitar contato com a microbiota do trato superior	1–2 mL	Escarro por expectoração: se possível, o paciente deve enxaguar a boca com água antes da coleta; o paciente deve tossir profundamente e expectorar a secreção das vias aéreas inferiores diretamente em um copo estéril; deve-se evitar a contaminação com saliva. Material de broncoscopia: anestésicos podem inibir o crescimento de bactérias; então, o material deve ser processado imediatamente; se um broncoscópio "protegido" for usado, cultura de anaeróbios poderá ser realizada. Aspirado diretamente do pulmão: material poderá ser processado para bactérias aeróbias e anaeróbias
Ouvidos	Seringa sem agulha com tampa; tubo estéril com tampa de rosca	Qualquer volume coletado	O material deve ser coletado com seringa e agulha; cultura do ouvido externo não tem valor preditivo para otite média
Olhos	Inocular as placas no local da coleta (selar e levar ao laboratório imediatamente)	Qualquer volume coletado	Para infecções na superfície do olho, as amostras são recolhidas com um cotonete ou raspado de córnea; para infecções profundas, aspiração de líquido aquoso ou vítreo é realizada; todas as amostras devem ser inoculadas em meio apropriado na coleta; atrasos resultarão em perda significativa de organismos
Exsudato (transudatos, drenagem, úlceras)	Swab em meio de transporte, aspirado em tubo estéril com tampa de rosca	Bactéria: 1–5 mL Micobactéria: 3–5 mL	Contaminação com material da superfície deve ser evitada; este material geralmente é inadequado para cultura de anaeróbios
Feridas (abscessos, pus)	Aspirado em tubo estéril com tampa de rosca, tubo estéril anaeróbio ou frasco pequeno	1–5 mL de pus	O material deve ser coletado com seringa e agulha estéreis; uma cureta é usada para coletar o material na base da lesão
Tecidos	Tubo estéril com tampa de rosca; tubo estéril anaeróbio ou frasco pequeno	Amostra representativa do centro e da borda da lesão	O material deve ser assepticamente colocado em frasco estéril apropriado; uma quantidade adequada de material deve ser coletada para recuperar um pequeno número de organismos
Urina: jato médio	Frasco coletor estéril	Bactéria: 1 mL Micobactéria: ≥ 10 mL	Contaminação do material com bactérias da uretra e da vagina deve ser evitada; a primeira porção do material deve ser descartada; organismos podem crescer rapidamente na urina, então o material deve ser transportado imediatamente ao laboratório, armazenado em conservante bacteriostático ou refrigerada
Urina: sondagem	Frasco coletor estéril	Bactéria: 1 mL Micobactéria: ≥ 10 mL	Cateterização não é recomendada para cultura de rotina (risco de induzir infecção); a primeira porção do material é contaminada com bactérias da uretra, então deve ser descartada (semelhante à coleta feita por jato médio de micção espontânea); o material deve ser enviado rapidamente ao laboratório
Urina: punção suprapúbica	Frasco estéril anaeróbio ou frasco pequeno	Bactéria: 1 mL Micobactéria: ≥ 10 mL	É uma coleta invasiva, de forma que bactérias da uretra são evitadas; é o único método disponível válido para cultura de anaeróbios; também é útil para coletar material de crianças e adultos que não são capazes de evitar a contaminação da uretra pela micção espontânea

Material	Sistema de Transporte	Volume de Material	Outras Considerações
Genital	Swabs coletados especificamente para Neisseria gonorrhoeae e sonda para Chlamydia	N/A	A área de inflamação ou exsudato deve ser amostrada; material da endocérvice (não a vagina) e da uretra deve ser cultivado para ótima detecção. O primeiro espécime na urina vertida pode ser utilizado para o diagnóstico de uretrite
Fezes	Frasco coletor estéril com tampa de rosca	N/A	Transporte rápido ao laboratório é necessário para prevenir a produção de ácidos (bactericidas para alguns patógenos entéricos) por bactérias entéricas da microbiota normal; o material é inadequado para cultura de anaeróbios; devido ao fato de que um grande número de meios diferentes será inoculado, swab não deverá ser usado para coleta de material.

N/A, Não aplicável.

Sangue

A cultura do sangue é um dos procedimentos mais importantes realizados no laboratório de microbiologia clínica. O sucesso deste exame está diretamente relacionado com o método usado para coletar a amostra de sangue. O fator mais importante que determina o sucesso da hemocultura é o volume de sangue processado. Por exemplo, mais de 40% das culturas são positivas para os organismos se 20 ml em vez de 10 ml de sangue são cultivados, pois mais da metade de todos os pacientes sépticos têm menos de um microrganismo por mililitro de sangue. Aproximadamente 20 ml de sangue devem ser coletados de um adulto para cada hemocultura, e proporcionalmente menores volumes devem ser coletados de crianças e recém-nascidos. Já que muitos pacientes hospitalizados são suscetíveis a infecções com organismos que colonizam a pele, a desinfecção cuidadosa da pele do paciente antes da coleta é importante.

Bacteremia e fungemia são definidas como a presença de bactérias e fungos, respectivamente, no sangue, e estas infecções são referidas coletivamente como septicemia. Estudos clínicos têm demonstrado que a septicemia pode ser contínua ou intermitente. Septicemia contínua ocorre principalmente em pacientes com infecções intravasculares (p.ex., endocardite, tromboflebite séptica, infecções associada a cateter intravascular) ou com sepse grave (p.ex., choque séptico). Septicemia intermitente ocorre em pacientes com infecções localizadas (p.ex., pulmões, trato urinário, tecidos moles). O momento da coleta do sangue não é importante para os pacientes com septicemia contínua, mas pode ser importante para aqueles com septicemia intermitente. Além disso, como os sinais clínicos de sepse (p.ex., febre, calafrios, hipotensão) são uma resposta à liberação de endotoxinas ou exotoxinas dos organismos, esses sinais ocorrem 1 hora após os organismos terem entrado no sangue. Assim, poucos ou nenhum organismo podem estar no sangue quando o paciente se torna febril. Por esta razão, recomenda-se que duas ou três amostras de sangue devam ser colhidas, com as duas primeiras simultaneamente antes que os antibióticos sejam administrados e a terceira cultura em um momento aleatório, durante um período de 24 horas.

A maioria das amostras de sangue é inoculada diretamente em frascos com caldos nutrientes enriquecidos. Para garantir a recuperação máxima de organismos importantes, dois frascos de meio devem ser inoculados em cada cultura (10 ml de sangue por frasco). Quando esses frascos são recebidos no laboratório, eles são incubados a 37°C e inspecionados a intervalos regulares para a evidência do crescimento microbiano. Na maior parte dos laboratórios, isto é realizado utilizando instrumentos automatizados de hemocultura. Quando o crescimento é detectado, os caldos são subcultivados a fim de isolar o organismo para identificação e para testar a sensibilidade aos antimicrobianos. Isolados clinicamente mais significativos são detectados dentro dos primeiros 1 a 2 dias de incubação; no entanto, todas as culturas devem ser incubadas durante um mínimo de 5 a 7 dias. Incubação mais prolongada é geralmente desnecessária. Como normalmente poucos organismos estão presentes no sangue de um paciente séptico, não vale a pena realizar uma coloração de Gram diretamente do sangue para análise microscópica.

Líquido Cefalorraquidiano

A meningite bacteriana é uma doença grave associada a altas morbidade e mortalidade, se o diagnóstico etiológico não for rápido. Como alguns patógenos comuns são lábeis (p.ex., Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae), as amostras de líquido cefalorraquidiano devem ser processadas imediatamente após serem coletadas. Em nenhuma circunstância o material deve ser refrigerado ou colocado diretamente em uma estufa. A pele do paciente deve ser desinfectada antes da punção lombar, e o líquido cefalorraquidiano é coletado em tubos estéreis com tampa de rosca. Quando o material é recebido no laboratório de microbiologia, ele é concentrado por centrifugação e o sedimento é inoculado em meios de cultura bacteriológicos e usado para preparar a coloração de Gram. O técnico de laboratório deve notificar imediatamente o médico se são observados organismos microscopicamente, ou em cultura.

Outros Fluidos Normalmente Estéreis

Uma variedade de outros fluidos normalmente estéreis pode ser colhida para cultura bacteriológica, incluindo líquidos abdominal (peritoneal), torácico (pleural), sinovial e pericárdico. Se um grande volume de líquido pode ser colhido por aspiração (p.ex., líquido abdominal ou torácico), ele deve ser inoculado em frascos de hemocultura contendo meios nutritivos. Uma pequena parte deve também ser enviada para o laboratório num tubo estéril de modo que as colorações adequadas (p.ex., Gram, acidorresistente) possam ser preparadas. Muitos organismos são associados a infecções nesses locais, incluindo infecções polimicrobianas de microrganismos aeróbios e anaeróbios. Por esta razão, coloração biológica é útil para identificar os organismos responsáveis pela infecção. Como relativamente poucos organismos podem estar na amostra (devido à diluição de organismos ou pela eliminação microbiana devido à resposta imune do hospedeiro), é importante utilizar para a cultura o maior volume de líquido possível. Todavia, se apenas pequenas quantidades de líquido forem coletadas, o material pode ser inoculado diretamente no meio de ágar e em tubo contendo caldo de enriquecimento. Visto que os anaeróbios também podem estar presentes na amostra (particularmente nas amostras obtidas a partir de pacientes com infecções intra-abdominais ou pulmonares), o material não deve ser exposto ao oxigênio e deve ser processado para anaeróbios.

Amostras do Trato Respiratório Superior

A maioria das infecções bacterianas da faringe é causada por Streptococcus do grupo A. Outras bactérias que podem causar pertussis, incluem Corynebacterium diphtheriae, Bordetella Neisseria gonorrhoeae, pneumoniae e Mycoplasma pneumoniae. No entanto, técnicas especiais são geralmente necessárias para recuperar estes potencialmente patogênicas como Staphylococcus Outras bactérias aureus, pneumoniae, Haemophilus influenzae, Enterobacteriaceae e Pseudomonas aeruginosa — podem estar presentes na orofaringe, mas raramente causam faringite.

Um *swab* de Dacron ou de alginato de cálcio deve ser usado para coletar amostras da faringe. As áreas das amígdalas, faringe posterior e qualquer área de exsudato ou ulcerativa devem ser amostradas. A contaminação do material com a saliva deve ser evitada, pois as bactérias presentes na saliva podem crescer mais rapidamente ou inibir o crescimento de estreptococos do grupo A. Se uma pseudomembrana está presente (p.ex., como ocorre nas infecções causadas por *C. diphtheriae*), uma porção deve ser retirada e submetida à cultura. Estreptococos do grupo A e *C. diphtheriae* são muito resistentes à dessecação, por isso não são necessárias precauções especiais para o transporte da amostra ao laboratório. Em contraste, as amostras colhidas para o isolamento de *B. pertussis* e *N. gonorrhoeae* devem ser inoculadas em meios de cultura imediatamente após serem coletadas e antes de serem enviadas para o laboratório. Os materiais obtidos para o isolamento de *C. pneumoniae* e *M. pneumoniae* devem ser transportados em um meio de transporte especial.

Estreptococos do grupo A podem ser detectados diretamente na amostra clínica, por meio do uso de imunoensaios para o antígeno do grupo C, especificamente. Embora esses testes sejam muito específicos e prontamente disponíveis, os testes da velha geração eram insensíveis e não podiam ser usados com fiabilidade para excluir o diagnóstico da faringite estreptocócica do grupo A. Testes mais recentes, utilizando imunoensaios mais sensíveis e dispositivos de leitura digital, bem como testes de amplificação de ácidos nucleicos, proporcionam uma sensibilidade equivalente à cultura.

Outras infecções do trato respiratório superior podem envolver epiglote e os seios da face. Obstrução completa das vias aéreas pode ser induzida por tentativas de coleta para cultura de material da epiglote (particularmente em crianças); assim, essas coletas nunca devem ser executadas. O diagnóstico específico de infecção dos seios da face requer (1) aspiração direta do seio; (2) transporte anaeróbio apropriado do material ao laboratório (usando um sistema que evite a exposição ao oxigênio e a dessecagem); e (3) processamento imediato. Cultura da nasofaringe e orofaringe não é útil e não deveria ser executada. *S. pneumoniae, H. influenzae, Moraxella catarrhalis, S. aureus* e anaeróbios são os patógenos mais comuns que causam sinusite.

Amostras do Trato Respiratório Inferior

Uma variedade de técnicas pode ser utilizada para colher amostras do trato respiratório inferior, as quais incluem expectoração, indução com soro fisiológico, broncoscopia e aspiração direta através da parede torácica. Como as bactérias das vias aéreas superiores podem contaminar o escarro expectorado, o material deve ser inspecionado microscopicamente para avaliar a magnitude da contaminação por via oral. Amostras contendo muitas células epiteliais escamosas e sem bactérias predominantes em associação com os neutrófilos não devem ser processadas na cultura. A presença de células epiteliais escamosas indica que a amostra foi contaminada com saliva. Esta contaminação pode ser evitada mediante a obtenção da amostra usando broncoscópios especialmente concebidos ou aspiração pulmonar direta. Se uma infecção pulmonar anaeróbia for suspeita, estes procedimentos invasivos devem ser usados, pois a contaminação da amostra com a microbiota das vias aéreas superiores tornaria o material inútil. Agentes patogênicos do trato respiratório inferior crescem mais rapidamente (dentro de 2 a 3 dias); contudo, algumas bactérias de crescimento lento, como micobactérias ou nocardia, exigirão incubação prolongada.

Olhos e Ouvidos

Timpanocentese (i.e., a aspiração de fluido do ouvido médio) é necessária para fazer o diagnóstico específico de uma infecção do ouvido médio. Isto é desnecessário na maioria dos pacientes, pois os patógenos mais comuns que causam essas infecções (*S. pneumoniae, H. infuenzae,* e *M. catarrhalis*) podem ser tratados empiricamente. Otites externas são geralmente causadas por *P. aeruginosa* ("ouvido de nadador") ou *S. aureus*. A amostra apropriada para cultura é uma raspagem da área envolvida do ouvido.

Coleta de amostras para o diagnóstico de infecção ocular é difícil porque a quantidade de amostra obtida é geralmente muito pequena e relativamente muito poucos organismos podem estar presentes. Amostras da superfície do olho devem ser colhidas com um *swab* antes de os anestésicos tópicos serem aplicados, de raspados de córnea, quando necessário. Amostras intraoculares são coletadas por aspiração diretamente do olho. As amostras devem ser inoculadas nos meios de cultura assim que forem coletadas e antes de serem enviados para o laboratório. Apesar de os patógenos oculares mais comuns crescerem rapidamente (p.ex., *S. aureus, S. pneumoniae, H. influenzae, P. aeruginosa, Bacillus cereus*), alguns podem exigir incubação prolongada (p.ex., estafilococos coagulase-negativos), ou a utilização de meios de cultura específicos (*N. gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis*).

Feridas, Abscessos e Tecidos

Feridas abertas e drenadas podem muitas vezes estar contaminadas com organismos potencialmente patogênicos não relacionados com o processo infeccioso específico. Por isso, é importante coletar amostras do fundo da ferida depois que a superfície tenha sido limpa. Sempre que possível, deve-se evitar o uso de *swab* porque é difícil obter uma amostra representativa sem contaminação por organismos que colonizam a superfície. Da mesma maneira, a partir de aspirados de um abscesso fechado devem ser colhidos tanto o centro como a parede do abscesso. A simples coleta de pus de um abscesso geralmente não é produtiva, porque a maioria dos organismos se replica ativamente na base do abscesso e não no centro. Drenagem de material para diagnóstico de infecções em tecidos moles pode ser colhida por aspiração. Se o material de drenagem não for obtido, uma pequena quantidade de solução salina pode ser infundida dentro do tecido e, em seguida, aspirada para a cultura. Solução salina contendo um conservante bactericida não deve ser usada.

Os tecidos devem ser obtidos a partir de partes representativas do processo infeccioso, com múltiplas amostras coletadas, sempre que possível. A amostra de tecido deve ser transportada em um recipiente estéril com tampa de rosca, e salina estéril deve ser adicionada para evitar a secagem, se uma pequena amostra (p.ex., biópsia) for coletada. Uma amostra de tecido também deve ser submetida a exame histológico. Como a coleta de amostras de tecido requer procedimentos invasivos, todo esforço deve ser feito para coletar a amostra adequada e garantir que ela seja cultivada para todos os organismos clinicamente significativos que podem ser responsáveis pela infecção. Isso requer uma estreita comunicação entre o médico e o microbiologista.

Urina

A urina é um dos materiais mais frequentemente recebidos para a cultura. Uma vez que uma variedade de bactérias podem colonizar a uretra, a primeira porção de urina recolhida por micção espontânea ou cateterismo deve ser descartada. Agentes patogênicos do trato urinário também podem crescer na urina; por isso, não deve haver demora no transporte de amostras para o laboratório. Se a amostra não pode ser cultivada imediatamente, ela deve ser refrigerada ou colocada em um **conservante bacteriostático**. Quando a amostra é recebida no laboratório, de 1 a 10 µl são inoculados em cada meio de cultura (geralmente um meio não seletivo e um meio seletivo). Isto é feito de modo que o número de organismos na urina possa ser quantificado, o que é útil para avaliar o significado do crescimento bacteriano, apesar de um pequeno número de organismos na cultura de um paciente com piúria poder ser clinicamente significativo. Numerosos procedimentos de triagem na urina (p.ex., testes bioquímicos, achados microscópicos) têm sido desenvolvidos e são utilizados amplamente; no entanto, os procedimentos atuais não podem ser recomendados porque são invariavelmente pouco sensíveis para detectar bacteriúria de baixo grau em escala clinicamente significativa.

Amostras Genitais

Apesar da variedade de bactérias associadas a doenças sexualmente transmissíveis, a maioria dos laboratórios concentra-se na detecção de *N. gonorrhoeae* e *C. trachomatis*. Tradicionalmente, isso é feito por meio da inoculação da amostra em um meio de cultura seletivo para esses organismos; todavia, este é um processo lento, levando 2 ou mais dias para a positividade da cultura e ainda mais tempo para os isolados serem identificados. A cultura também é considerada pouco sensível porque os organismos são extremamente lábeis e morrem rapidamente se transportados em condições inferiores às ideais. Por essas razões, uma variedade de métodos não baseados na cultura está sendo usada atualmente. Os métodos mais populares são procedimentos de amplificação de ácidos nucleicos (p.ex., amplificação de sequências de ácido desoxirribonucleico [DNA] espécie-específicas através da reação em cadeia da polimerase ou outros métodos) para ambos os organismos. A detecção dessas sequências de amplificação é sensível e específica. A urina pode ser utilizada para esses testes, mas, em contraste com as amostras recolhidas para o diagnóstico de cistite, a primeira porção excretada de urina deve ser testada para o diagnóstico de uretrite.

Outra importante bactéria que causa doença sexualmente transmissível é o *Treponema pallidum*, o agente etiológico da sífilis. Este organismo não pode ser cultivado em laboratório clínico; por isso, o diagnóstico é feito usando-se microscopia ou sorologia. Material de lesão deve ser examinado utilizando-se microscopia de campo escuro, porque o organismo é fino

demais para ser detectado utilizando-se microscopia de campo claro. Além disso, o organismo morre rapidamente quando exposto ao ar e em ambiente seco, de modo que o exame microscópico deve ser realizado no momento em que a amostra for coletada.

Amostras Fecais

Uma grande variedade de bactérias pode provocar infecções gastrointestinais. Para que essas bactérias possam ser isoladas na cultura, uma amostra de fezes adequada deve ser coletada (geralmente isso não é um problema em um paciente com diarreia), transportada para o laboratório de uma maneira que assegure a viabilidade do organismo infectante, e inoculada em meios seletivos apropriados. *Swab* retal não deve ser enviado porque vários meios seletivos devem ser inoculados para os vários agentes patogênicos possíveis de serem recuperados. A quantidade de fezes colhidas num *swab* seria inadequada.

As amostras de fezes devem ser coletadas em frasco limpo e, em seguida, transferidas para um recipiente impermeável hermeticamente fechado. As amostras devem ser transportadas imediatamente ao laboratório para evitar sua acidificação (o que pode ser causado pelo metabolismo bacteriano), que é tóxica para alguns organismos (p.ex., *Shigella*). Se houver previsão de demora no transporte, as fezes podem ser misturadas com um conservante, como tampão de fosfato, misturadas com glicerol ou meio de transporte Cary-Blair. Em geral, contudo, o transporte rápido da amostra para o laboratório é sempre melhor que a utilização de qualquer meio de transporte.

É importante notificar o laboratório se um determinado patógeno entérico é suspeito; isso vai ajudar o laboratório a selecionar o meio de cultura específico. Por exemplo, ainda que as espécies de *Vibrio* possam crescer nos meios comuns utilizados para a cultura de fezes, a utilização de meios seletivos para *Vibrio* facilita o rápido isolamento e a identificação desse organismo. Além disso, alguns organismos não são isolados pelos procedimentos laboratoriais de rotina (p.ex., *Escherichia coli* enterotoxigênica pode crescer em meios de cultura de rotina, mas não seria facilmente distinguida da *E. coli* não patogênica). Igualmente, outros organismos não seriam esperados em uma amostra de fezes porque a doença é causada pela toxina produzida no alimento, não pelo crescimento do organismo no trato gastrointestinal (p.ex., *S. aureus* e *B. cereus*). O microbiologista deve ser capaz de selecionar testes apropriados (p.ex., cultura, pesquisa de toxina, amplificação de ácidos nucleicos) se um patógeno específico é indicado. *Clostridium dificile* é uma causa significativa de doença gastrointestinal associada ao uso de antibióticos. Embora o organismo possa ser cultivado a partir de amostras de fezes, se as amostras forem prontamente entregues ao laboratório, a maneira mais específica para diagnosticar a infecção é por meio da detecção das toxinas responsáveis pela doença ou dos genes que codificam para estas toxinas em extratos fecais. Os ensaios mais sensíveis e específicos para o diagnóstico da doença de *C. difficile* são os de detecção dos genes da toxina por ensaios de amplificação de ácidos nucleicos. Esses testes também estão disponíveis como ensaios comerciais para a detecção dos agentes patogênicos entéricos mais comuns bacterianos, virais e parasitários.

Como muitas bactérias, tanto patogênicas quanto não patogênicas, estão presentes em amostras fecais, é frequente demorar pelo menos três dias para o agente patogênico entérico ser isolado e identificado. Por esta razão, as culturas de fezes são usadas para confirmar o diagnóstico clínico, e o tratamento, se indicado, não deve ser adiado enquanto se aguardam os resultados da cultura.

Detecção e Identificação Bacterianas

A detecção de bactérias em amostras clínicas é baseada em cinco procedimentos gerais: (1) microscopia, (2) detecção de antígenos bacterianos, (3) detecção de ácidos nucleicos específicos da bactéria, (4) cultura e (5) detecção de anticorpos em resposta à presença de bactérias (sorologia). As técnicas específicas utilizadas para esses procedimentos foram apresentadas nos capítulos anteriores e não serão repetidas neste capítulo. Entretanto, a Tabela 16-2 resume o valor relativo de cada um dos procedimentos para a detecção de organismos discutidos nos Capítulos 18 a 35.

Métodos de Detecção para Bactérias

Microrganismo	Métodos de Detecção					
	Microscopia	Detecção de Antígeno	Testes Baseados em Ácidos Nucleicos	Cultura	Detecção de Anticorpos	
Cocos Gram-positivos						
Staphylococcus aureus	A	В	С	A	D	
Streptococcus pyogenes	В	A	A	A	В	
Streptococcus agalactiae	В	В	A	A	D	
Streptococcus pneumoniae	A	В	С	A	С	
Enterococcus spp.	A	D	В	A	D	
Bacilos Gram-positivos	•					
Bacillus anthracis	В	С	В	A	D	
Bacillus cereus	В	D	D	В	D	
Listeria monocytogenes	A	D	D	A	D	
Erysipelothrix rhusiopathiae	A	D	D	A	D	
Corynebacterium diphtheriae	В	D	С	A	D	
Outras espécies de Corynebacterium	A	D	D	A	D	
Tropheryma whipplei	В	D	A	D	D	
Bacilos Acidorresistente	s e Parcialm	ente Acidorres	istentes			
Nocardia spp.	A	D	В	A	D	
Rhodococcus equi	A	D	D	A	D	
Mycobacterium tuberculosis	A	В	A	A	С	
Mycobacterium leprae	В	D	D	D	В	
Outras espécies de <i>Mycobacterium</i>	A	D	В	A	D	
Cocos Gram-negativos				•		
Neisseria gonorrheae	A	D	A	A	D	
Neisseria meningitidis	A	В	D	A	D	
Moraxella catarrhalis	A	D	D	A	D	
Bacilos Gram-negativos						
Escherichia coli	A	В	С	A	D	
Salmonella spp.	В	D	D	A	В	
Shigella spp.	В	D	D	A	D	
Yersinia pestis	В	С	В	A	С	
Yersinia enterocolitica	В	D	В	A	В	
Enterobacteriaceae, outros gêneros	A	D	D	A	D	
Vibrio cholerae	В	D	В	A	D	
Outras espécies de Vibrio	В	D	D	A	D	
Aeromonas spp.	В	D	В	A	D	
Campylobacter spp.	В	A	В	A	D	
Helicobacter pylori	В	A	С	В	A	

Microrganismo	Métodos de Detecção				
	Microscopia	Detecção de Antígeno	Testes Baseados em Ácidos Nucleicos	Cultura	Detecção de Anticorpos
Pseudomonas aeruginosa	A	D	D	A	D
Burkholderia spp.	A	D	D	A	D
Acinetobacter spp.	A	D	D	A	D
Haemophilus influenzae	A	В	С	A	D
Haemophilus ducreyi	В	D	С	A	D
Bordetella pertussis	В	С	A	В	A
Brucella spp.	В	С	D	A	В
Francisella tularensis	В	С	D	A	В
Legionella spp.	В	A	В	A	В
Bartonella spp.	С	D	В	A	A
Anaeróbios	•			•	
Clostridium perfringens	A	D	D	A	D
Clostridium tetani	В	D	D	A	D
Clostridium botulinum	В	A	D	В	D
Clostridium difficile	С	D	A	В	D
Cocos Gram-positivos anaeróbios	A	D	D	A	D
Bacilos Gram-positivos anaeróbios	A	D	D	A	D
Bacilos Gram-negativos anaeróbios	A	D	D	A	D
Bactérias Espiraladas		ı		'	
Treponema pallidum	В	D	D	D	A
Borrelia burgdorferi	С	A	A	В	A
Outras espécies de <i>Borrelia</i>	A	D	D	В	D
Leptospira spp.	В	D	В	В	A
Mycoplasma e Bactérias	s Intracelular	es Obrigatória	ıs	ı	
Mycoplasma pneumoniae	D	С	A	В	A
Rickettsia spp.	В	D	В	D	A
Orientia spp.	В	С	С	С	A
Ehrlichia spp.	В	С	С	С	A
Anaplasma spp.	В	С	С	С	A
Coxiella burnetii	С	С	В	С	A
Chlamydia trachomatis	В	В	A	В	D
Chlamydophila pneumoniae	D	D	В	С	В
Chlamydophila psittaci	D	D	В	D	A

A, Teste geralmente útil para o diagnóstico; B, teste útil em certas circunstâncias ou para o diagnóstico de formas específicas da doença; C, teste geralmente não usado em laboratório de diagnóstico ou usado em laboratórios de referência especializados; D, teste geralmente não usado.

Apesar de muitos organismos poderem ser identificados especificamente por uma variedade de técnicas, o procedimento mais comum utilizado nos laboratórios de diagnóstico é a identificação de um organismo isolado em cultura por meio de testes bioquímicos. Em grandes laboratórios hospitalares de ensino e laboratórios de referência, muitos testes bioquímicos foram substituídos recentemente pelo sequenciamento de genes bacterianos específicos (p.ex., gene 16S RNAr) ou pelo uso de ferramentas proteômicas, tais como espectrometria de massa. Acreditamos que a maioria dos estudantes que utilizam este livro não está interessada nos detalhes da identificação microbiana. Aqueles que estão interessados devem consultar livros como *Microbiologia Diagnóstica de Bailey e Scott*, o *Manual ASM de Microbiologia Clínica* e comentários que cobrem especificamente esse tópico.

É importante para todos os alunos a compreensão de que a terapia antimicrobiana empírica pode ser adequada com base na identificação preliminar de um organismo usando a morfologia microscópica e macroscópica e testes bioquímicos seletivos e rápidos. Consulte a Tabela 16-3 para exemplos específicos.



Tabela 16-3

Identificação Preliminar do Isolado Bacteriano na Cultura

Organismo	Propriedades
Staphylococcus aureus	$Cocos\ Gram-positivos\ em\ aglomerado;\ colônias\ grandes\ \beta-hemolíticas;\ catalase-positivo;\ coagulase-positivo$
Streptococcus pyogenes	Cocos Gram-positivos em cadeias longas; colônias pequenas com grande zona de β-hemólise; catalase-negativo; PYR-positivo (L-pirrolidonil arilamidase)
Streptococcus pneumoniae	Cocos Gram-positivos aos pares e em cadeias curtas; colônias pequenas α -hemolíticas, catalase-negativo; solúvel em bile
Enterococcus spp.	Cocos Gram-positivos aos pares e em cadeias curtas; colônias pequenas α -hemolíticas ou não hemolíticas; catalase-negativas; PYR-positivas
Listeria monocytogenes	Pequenos, bacilos Gram-positivos; colônias fracamente β -hemolíticas; motilidade característica (cambalhotas)
Nocardia spp.	Cora-se fracamente (Gram e acidorresistente modificado); bacilos finos, filamentosos e ramificados; colônias felpudas (hifas aéreas)
Rhodococcus equi	Cora-se fracamente (Gram e acidorresistente modificado); inicialmente bacilos sem ramificação; cocos em culturas velhas; pouco crescimento; colônias rosa-avermelhadas
Mycobacterium tuberculosis	Bacilo fortemente acidorresistente; crescimento lento; colônias não pigmentadas; identificado por sondas moleculares específicas
Enterobacteriaceae	Bacilos Gram-negativos com coloração "bipolar" (mais intensa nas extremidades); célula única típica; colônias grandes; crescimento em ágar MacConkey (pode ou não fermentar a lactose); oxidase-negativo
Pseudomonas aeruginosa	Bacilos Gram-negativos com coloração uniforme; tipicamente aos pares; colônia espalhada, grande e verde fluorescente, usualmente β-hemolítica, com odor de fruta (uva); crescimento em ágar MacConkey; não fermentadora; oxidase-positiva
Stenotrophomonas maltophilia	Bacilos Gram-negativos com coloração uniforme; tipicamente aos pares; colônia verde-lavanda no ágar-sangue; crescimento em ágar MacConkey; não fermentadora; oxidase-negativa
Acinetobacter spp.	Cocobacilos Gram-negativos grandes, arranjados em células únicas ou aos pares; podem reter o cristal violeta e assemelhar-se a cocos Gram-positivos grandes aos pares; crescem em ágar-sangue e ágar MacConkey (podem oxidar a lactose e apresentar-se levemente púrpura); oxidase-negativas
Campylobacter spp.	Bacilos Gram-negativos finos, curvados, arranjados aos pares (pares em forma de S); crescem em meios altamente seletivos para <i>Campylobacter</i> ; não crescem nos meios de rotina (ágar-sangue, chocolate ou MacConkey)
Haemophilus spp.	Cocobacilos Gram-negativos pequenos, arranjados como células únicas; crescem em ágar-chocolate, mas não em ágar-sangue ou MacConkey; oxidase-negativas
Brucella spp.	Cocobacilos Gram-negativos muito pequenos; arranjados como células únicas; crescimento lento; não crescem em ágar MacConkey; bioterrorismo
Francisella spp.	Cocobacilos Gram-negativos muito pequenos; arranjados como células únicas; crescimento lento; não crescem em ágar-sangue e MacConkey; bioterrorismo
Legionella spp.	Bacilos Gram-negativos, fracamente corados, finos, crescimento lento; crescem em ágar específico; não crescem em ágar-sangue, ágar-chocolate e MacConkey
Clostridium perfringens	Bacilo retangular, grande, com esporos não observados; rápido crescimento de colônias espalhadas, com dupla zona de hemólise (zona grande de α -hemólise com zona de β -hemólise no interior); anaeróbio estrito
Grupo Bacteroides fragilis	Bacilo Gram-negativo, fracamente corado, pleomórfico (tamanho variado); crescimento rápido estimulado pela adição de bile no meio; anaeróbio estrito

Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

Os resultados dos testes de suscetibilidade antimicrobiana *in vitro* são importantes para selecionar os agentes quimioterápicos ativos contra o organismo infectante. Extenso trabalho tem sido realizado em um esforço para padronizar os métodos de testagem e melhorar o valor preditivo dos resultados. Apesar desses esforços, os testes *in vitro* são simplesmente uma medida do efeito do antibiótico contra o organismo sob condições específicas. A seleção de um antibiótico e a melhora clínica do paciente são influenciados por uma variedade de fatores inter-relacionados, incluindo as

propriedades farmacocinéticas do antibiótico, a toxicidade da droga, a doença clínica e o estado geral de saúde do paciente. Assim, alguns organismos que são "suscetíveis" a um antibiótico persistirão em uma infecção, e alguns organismos que são "resistentes" a um antibiótico serão eliminados. Por exemplo, devido ao fato de o oxigênio ser necessário para que aminoglicosídeos penetrem na célula bacteriana, estes antibióticos são ineficazes em um abcesso anaeróbico. Da mesma maneira, concentrações muito altas de antibiótico podem ser atingidas na urina; assim, bactérias "resistentes", responsáveis por infecções do trato urinário, podem ser eliminadas por concentrações elevadas de alguns antibióticos na urina.

Duas formas gerais de testes de suscetibilidade antimicrobiana são realizadas em laboratório clínico: **testes de diluição em caldo** e **testes de difusão em ágar**. Para os do primeiro tipo, diluições seriadas de um antibiótico são preparadas em meio de cultura nutriente e, em seguida, inoculadas com uma concentração padronizada da bactéria-teste. Após o período de incubação *overnight* (durante a noite), a concentração mais baixa de antibiótico que é capaz de inibir o crescimento bacteriano é referida como sendo a **concentração inibitória mínima (CIM)**. Já para os do segundo tipo, uma concentração padronizada da bactéria é semeada sobre a superfície do meio de cultura e, em seguida, discos de papel filtro ou tiras impregnadas com antibióticos são colocados na superfície do ágar. Após incubação *overnight*, uma área de inibição do crescimento é observada em torno dos discos de papel ou das tiras. O tamanho da área de inibição corresponde à atividade do antibiótico — o organismo é mais suscetível ao antibiótico, quanto maior a área de inibição do crescimento. Em condições padronizadas dos testes de difusão em ágar, a área de inibição corresponde ao valor da CIM. Cabe mencionar que uma empresa comercial desenvolveu um ensaio em que o valor da CIM é calculado diretamente a partir da zona de inibição de crescimento bacteriano em torno da tira de antibiótico, que contém um gradiente de concentrações decrescentes a partir do topo para a parte inferior da tira.

Testes de diluição em caldo foram realizados inicialmente em tubos e eram muito trabalhosos. Sistemas comerciais prontos para uso estão agora disponíveis, nos quais as diluições do antibiótico são preparadas em placas de microtitulação, e a inoculação dos poços e a interpretação das CIM são automatizadas. As desvantagens desses sistemas são que a lista dos diferentes antibióticos é determinada pelo fabricante e o número de diluições de cada antibiótico é limitado. Assim, os resultados podem não estar disponíveis para os antibióticos recentemente introduzidos no mercado. Testes de difusão são trabalhosos, e a interpretação do tamanho do halo de inibição pode ser subjetiva; no entanto, a vantagem desses ensaios é que virtualmente qualquer antibiótico pode ser testado. A capacidade de ambos os métodos de teste de suscetibilidade em prever a resposta clínica a um antibiótico é equivalente; assim, a seleção de um determinado teste é determinada pelas questões práticas.

Referências Bibliográficas

Forbes B, Sahm D, Weissfeld A. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. ed 12 St Louis: Mosby; 2007.

Mandell G, Bennett J, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. ed 7 New York: Churchill Livingstone; 2009.

Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

CAPÍTULO 17

Agentes Antibacterianos

Este capítulo fornece uma visão geral dos mecanismos de ação e espectro dos antibióticos antibacterianos mais comumente usados, bem como uma descrição dos mecanismos comuns de resistência bacteriana. A terminologia adequada para esta discussão é resumida no Quadro 17-1, e os mecanismos básicos e locais de atividade do antibiótico estão resumidos na Tabela 17-1 e na Figura 17-1, respectivamente.



Quadro 17-1 Terminologia

Espectro antibacteriano: Faixa de atividade de um antimicrobiano contra uma bactéria. Um antimicrobiano de **amplo espectro** pode inibir uma variedade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, entretanto um fármaco de **espectro restrito** é ativo contra uma variedade limitada de bactérias.

Antibiótico bacteriostático: Antibiótico que inibe o crescimento de bactérias, mas que não as mata.

Antibiótico bactericida: Antibiótico que mata bactérias.

Concentração inibitória mínima (CIM): Determinada pela exposição de uma suspensão padronizada de bactérias a uma série de diluições antimicrobianas. A concentração de antibiótico mais baixa que inibe o crescimento das bactérias é a CIM

Concentração bactericida mínima (CBM): Determinada pela exposição de uma suspensão padronizada de bactérias a uma série de diluições antimicrobianas. A concentração de antibiótico mais baixa que mata 99,9% da população é referida como o CBM.

Combinações de antibióticos: Combinações de antibióticos podem ser usadas para (1) ampliar o espectro antibacteriano para terapia empírica ou tratamento de infecções polimicrobianas, (2) prevenir a emergência de micro-organismos resistentes durante a terapia e (3) alcançar um efeito sinérgico letal.

Sinergismo de antibióticos: Combinações de dois antibióticos que têm atividade bactericida aumentada quando testados juntos, comparada com a atividade de cada um individualmente.

Antagonismo de antibióticos: Combinações de antibióticos em que a atividade de um interfere na atividade do outro (p.ex., a soma das atividades é menor que a atividade do fármaco mais ativo individualmente).

β-lactamase: Enzimas que hidrolisam o anel β-lactâmico dos antibióticos da classe dos β-lactâmicos, inativando o antibiótico. Enzimas específicas para penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos são as **penicilinases**, **cefalosporinases** e **carbapenemases**, respectivamente.



Mecanismos Básicos de Ação dos Antibióticos

Antibiótico	Ação	
Ruptura da Parede Celu	lar	
Penicilinas Cefamicinas Carbapenêmicos Monobactâmicos	Ligam-se às PBPs e às enzimas responsáveis pela síntese do peptidoglicano	
Inibidores de β-lactâmico/β- lactamase	Liga-se às β -lactamases e previne a inativação enzimática do β -lactâmico	
Vancomicina	Inibe as ligações cruzadas entre as camadas do peptidoglicano	
Daptomicina	Causa despolarização da membrana citoplasmática, resultando em interrupção do gradiente de concentração iônica	
Bacitracina	Inibe a membrana citoplasmática bacteriana e a mobilização de precursores do peptidoglicano	
Polimixinas	Inibe a membrana bacteriana	
Isoniazida Etionamida	Inibe a síntese de ácido micólico	
Etambutol	Inibe a síntese de arabinogalactano	
Cicloserina	Inibe as ligações cruzadas entre as cadeias de peptidoglicano	
Inibidor da Síntese Prot	eica	
Aminoglicosídeos	Produz a liberação precoce de uma cadeia de peptídeos do ribossomo 30S	
Tetraciclinas	Impedem a elongação do polipeptídeo no ribossomo 30S	
Glicilciclinas	Ligam-se ao ribossomo 30S e impedem a iniciação da síntese proteica	
Oxazolidinona	Impede a iniciação da síntese proteica no ribossomo 50S	
Macrolídeos Cetolídeos Clindamicina Estreptograminas	Impede a elongação do polipeptídeo no ribossomo 50S	
Inibição da Síntese de Á	cido Nucleico	
Quinolonas	Liga-se à subunidade $lpha$ da DNA girase	
Rifampinica Rifabutina	Impede a transcrição pela ligação a RNA polimerase dependente de DNA	
Metronidazol	Ruptura do DNA bacteriano (é um composto citotóxico)	
Antimetabólitos		
Sulfonamidas	Inibem a di-hidropteroato sintase e interrompem a síntese de ácido fólico	
Dapsona	Inibe a di-hidropteroato sintase	
Trimetoprim	Inibe a di-hidropteroato redutase e interrompe a síntese de ácido fólico	

DNA, Ácido desoxirribonucleico; PBP, proteínas ligantes de penicilinas; RNA, ácido ribonucleico.

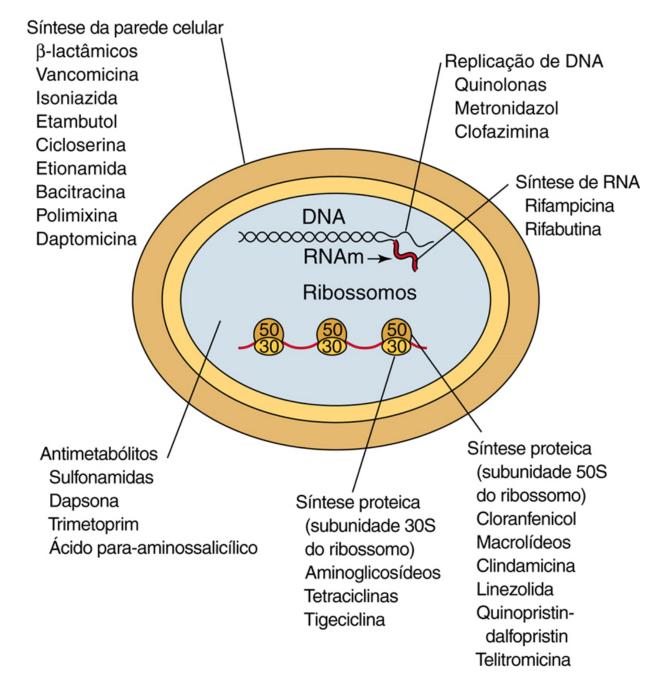


FIGURA 17-1 Locais básicos de atividade dos antibióticos.

O ano de 1935 foi importante para a quimioterapia das infecções bacterianas sistêmicas. Embora os antissépticos fossem aplicados topicamente para evitar o crescimento de micro-organismos, os existentes eram ineficazes contra infecções bacterianas sistêmicas. Em 1935, foi demonstrado que o corante protosil era capaz de proteger ratos contra infecções sistêmica por estreptococos e que permitia a cura de pacientes que sofriam de tais infecções. Em seguida, foi descoberto que o protosil era clivado no organismo para liberar *p*-aminobenzeno-sulfonamida (sulfanilamida), o qual demonstrou ter atividade antibacteriana. Este primeiro medicamento "sulfa" iniciou uma nova era na medicina. Compostos produzidos por micro-organismos (antibióticos) foram eventualmente descobertos como inibidores do crescimento de outros micro-organismos. Por exemplo, Alexander Fleming foi o primeiro a conceber que o fungo *Penicillium* impedia a multiplicação de estafilococos. Um concentrado de uma cultura desse fungo foi preparado e a notável atividade antibacteriana e a ausência de toxicidade do primeiro antibiótico, penicilina, foram demonstradas. Estreptomicinas e tetraciclinas foram desenvolvidas nas décadas de 1940 e 1950, seguidas rapidamente do desenvolvimento de aminoglicosídeos, penicilinas semissintéticas, cefalosporinas, quinolonas e outros agentes antimicrobianos. Todos esses agentes antibacterianos aumentaram consideravelmente a relação de doenças infecciosas que puderam ser prevenidas ou tratadas. Embora o desenvolvimento de novos antibióticos apresentadas, incluindo os cetolídeos (p.ex., telitromicina), glicilciclinas (tigeciclina), lipopeptídeos (daptomicina), estreptograminas (quinupristin-dalfopristin) e oxazolidinonas (linezolida).

Infelizmente, com a introdução de novos agentes quimioterápicos, as bactérias têm mostrado uma notável capacidade de desenvolver resistência. Assim, a antibioticoterapia não será a cura mágica para todas as infecções, como previsto; ao contrário, é apenas uma arma, ainda que importante, contra doenças infecciosas. Também é importante reconhecer que, pela resistência aos antibióticos ser frequentemente imprevisível, os médicos devem confiar em sua experiência clínica para

a seleção inicial da terapêutica empírica e, em seguida, refinar o tratamento selecionando antibióticos que demonstraram ser ativos por meio de testes *in vitro*. Diretrizes para o tratamento de infecções causadas por organismos específicos são discutidas nos itens pertinentes deste texto.

Inibição da Síntese da Parede Celular

O mecanismo mais comum de atividade antibiótica é a interferência na síntese da parede celular bacteriana. A maioria dos antibióticos que atua na parede celular bacteriana é classificada como β -lactâmicos (p.ex., penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, carbapenêmicos, monobactâmicos, inibidores de β -lactamase), assim chamados porque eles compartilham a estrutura comum do anel β -lactâmico. Outros antibióticos que interferem na síntese da parede celular bacteriana incluem vancomicina, daptomicina, bacitracina e os seguintes agentes antimicobacterianos: isoniazida, etambutol, cicloserina e etionamida.

Antibióticos β-lactâmicos

O principal componente estrutural da maioria das células bacterianas é a camada de peptidoglicano. A estrutura básica é uma cadeia de 10 a 65 resíduos de dissacarídeo, consistindo em moléculas de *N*-acetilglicosamina e ácido *N*-acetilmurâmico alternadamente. Essas cadeias são ligadas de forma cruzada por pontes peptídicas que criam uma malha rígida de revestimento para as bactérias. A construção das cadeias e ligações cruzadas é catalisada por enzimas específicas (p.ex., transpeptidases, transglicosilases, carboxipeptidases) que são membros de uma grande família de **serina-proteases**. Essas enzimas reguladoras são também denominadas de **proteínas ligantes de penicilina** (**PBP**, **do inglês**, *penicillin-binding proteins*), porque são os alvos dos antibióticos β-lactâmicos. Quando as bactérias crescem e são expostas a estes antibióticos, estes se ligam a PBPs específicas na parede celular bacteriana e inibem a formação da cadeia de peptidoglicano. Isso, por sua vez, ativa autolisinas que degradam a parede celular, resultando na morte da célula bacteriana. Assim, os antibióticos β-lactâmicos geralmente atuam como agentes bactericidas.

As bactérias podem tornar-se resistentes aos antibióticos β -lactâmicos por três mecanismos gerais: (1) diminuição da concentração do antibiótico no local-alvo da parede celular; (2) diminuição da ligação do antibiótico ao PBP e (3) hidrólise do antibiótico por enzimas bacterianas, β -lactamases. O primeiro mecanismo de resistência foi observado apenas em bactérias Gram-negativas. As bactérias Gram-negativas têm uma membrana externa que se sobrepõe à camada de peptidoglicano. A penetração de antibióticos β -lactâmicos em bacilos Gram-negativos requer a passagem através dos poros desta membrana externa. Alterações nas proteínas (**porinas**) que formam a parede dos poros podem alterar o tamanho da abertura dos poros ou a carga destes canais e resultam na exclusão do antibiótico. Adicionalmente, o efluxo ativo ou de bombeamento para fora do antibiótico pode diminuir a concentração de antibiótico na célula.

A resistência também pode ser adquirida por modificação da ligação do antibiótico β-lactâmico à PBP. Isso pode ser mediado por (1) uma superprodução de PBP (uma ocorrência rara), (2) a aquisição de uma nova PBP (p.ex., resistência à meticilina em *Staphylococcus aureus*), ou (3) modificação de uma PBP existente através de recombinação (p.ex., resistência à penicilina em *Streptococcus pneumoniae*), ou uma mutação pontual (resistência à penicilina em *Enterococcus faecium*).

Por fim, as bactérias podem produzir β-lactamases que inativam os antibióticos β-lactâmicos. Curiosamente, a maioria das β-lactamases é da mesma família de serina-proteases como as PBPs. Mais de 200 diferentes β-lactamases foram descritas. Algumas são específicas para as penicilinas (denominadas de penicilinases), cefalosporinas (cefalosporinases) ou carbapenêmicos (carbapenemases), enquanto outras têm um amplo espectro de atividade, incluindo algumas que são capazes de inativar a maioria dos antibióticos β-lactâmicos. Uma discussão exaustiva de β-lactamases está além do escopo deste capítulo; no entanto, uma breve discussão é pertinente para a compreensão das limitações dos antibióticos βlactâmicos. De acordo com um esquema de classificação, as β-lactamases foram divididas em quatro classes (A a D). As βlactamases mais comuns da classe A são SHV-1 e TEM-1, penicilinases encontradas em bacilos Gram-negativos (p.ex., Escherichia coli, Klebsiella), com atividade mínima contra cefalosporinas. Infelizmente, simples mutações pontuais nos genes que codificam essas enzimas têm produzido β-lactamases com atividade contra todas as penicilinas e cefalosporinas. Essas β-lactamases são referidas como β-lactamases de espectro estendido (ESBLs, do inglês, extended-spectrum βlactamases) e são particularmente problemáticas, porque a maioria é codificada por plasmídeos que podem ser transferidos de um organismo para outro. As β-lactamases da classe B são metaloenzimas zinco-dependentes que têm um amplo espectro de atividade contra todos os antibióticos β-lactâmicos, incluindo as cefamicinas e os carbapêmicos. As βlactamases da classe C são primariamente cefalosporinases que são codificadas no cromossomo bacteriano. A expressão dessas enzimas é quase sempre reprimida, embora isso possa ser alterado pela exposição a certos antibióticos β-lactâmicos "indutores" ou por mutações nos genes que controlam a expressão das enzimas. A expressão desta classe de β-lactamases é em particular problemática, porque elas são ativas contra as mais potentes cefalosporinas de espectro ampliado. A classe D de β-lactamases são penicilinases encontradas sobretudo em bacilos Gram-negativos.

Penicilinas

As penicilinas (Tabela 17-2) são antibióticos muitíssimo eficazes com uma toxicidade extremamente baixa. O composto básico é um ácido orgânico com um anel β-lactâmico obtido a partir da cultura do fungo *Penicillium chrysogenum*. Se o bolor é cultivado por um processo de fermentação, grandes quantidades de ácido 6-amino penicilânico (o anel β-lactâmico é ligado com um anel de tiazolidina) são produzidas. Modificação bioquímica desses antibióticos intermediários tem

aumentado a resistência aos ácidos do estômago, da absorção no trato gastrointestinal, a resistência à destruição por penicilinases, ou um espectro mais amplo de atividade que inclui as bactérias Gram-negativas.



Tabela 17-2

Penicilinas

Antibióticos	Espectro de Atividade
Penicilinas naturais: benzilpenicilina (penicilina G), fenoximetilpenicilina (penicilina V)	Ativas contra todos os estreptococos β-hemolíticos e a maioria das outras espécies; atividade limitada contra estafilococos; ativas contra meningococos e a maioria dos anaeróbios Gram-positivos; baixa atividade contra bacilos Gram-negativos aeróbios e anaeróbios
Penicilinas resistentes a penicilinases: meticilina, nafcilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina	Semelhantes às penicilinas naturais, exceto pela atividade aumentada contra estafilococos
Penicilinas de amplo espectro: ampicilina, amoxicilina	Atividade contra cocos Gram-positivos equivalente à das penicilinas naturais; ativas contra alguns bacilos Gram-negativos
β-lactâmico com inibidor de β-lactamase (ampicilina-sulbactam, amoxicilina- clavulanato, ticarcilina-clavulanato, piperacilina-tazobactam)	Atividade similar à dos β -lactâmicos naturais, com atividade aumentada contra os estafilococos produtores de β -lactamases e alguns bacilos Gram-negativos; nem todas as β -lactamases são inibidas; piperacilina/tazobactam são os mais ativos.

A penicilina G é inativada pelo ácido gástrico; portanto, é usada principalmente como um fármaco por via intravenosa para o tratamento de infecções provocadas por um número limitado de organismos sensíveis. Penicilina V é mais resistente ao ácido gástrico e é a forma oral preferida para o tratamento de bactérias sensíveis a este fármaco. **Penicilinas resistentes à penicilinase**, tais como meticilina e oxacilina, são usadas para tratar infecções causadas por estafilococos sensíveis. Infelizmente, a resistência a este grupo de antibióticos tem se tornado comum para infecções estafilocócicas tanto adquiridas no meio hospitalar quanto na comunidade. A ampicilina foi a primeira **penicilina de amplo espectro**, embora o espectro de atividade contra bacilos Gram-negativos seja limitado principalmente para *Escherichia coli, Proteus*, e espécies de *Haemophilus*. Penicilinas selecionadas foram combinadas com **inibidores de β-lactamases**. Os inibidores de β-lactamase (p.ex., ácido clavulânico, sulbactam, tazobactam) são relativamente inativos individualmente, mas, quando combinados com algumas penicilinas (i.e., ampicilina, amoxicilina, ticarcilina, piperacilina), são eficazes no tratamento de algumas infecções causadas por bactérias produtoras de β-lactamase. Os inibidores ligam-se irreversivelmente e inativam β-lactamases bacterianas suscetíveis (embora nem todas as β-lactamases se liguem a esses inibidores), permitindo que o fármaco associado iniba a síntese da parede celular bacteriana.

Cefalosporinas e Cefamicinas

As cefalosporinas (Tabela 17-3) são antibióticos β -lactâmicos derivados do ácido 7- aminocefalosporânico (o anel β -lactâmico é condensado com um anel de di-hidrotiazina), que foi originalmente isolado a partir do fungo *Cephalosporium*. As cefamicinas estão intimamente relacionadas com as cefalosporinas, exceto por conterem o oxigênio, em substituição ao enxofre no anel de di-hidrotiazina, tornando-as mais estáveis à hidrólise por β -lactamases. As cefalosporinas e cefamicinas têm o mesmo mecanismo de ação, como as penicilinas; no entanto, elas apresentam um espectro antibacteriano mais amplo, são resistentes a muitas β -lactamases, e têm melhores propriedades farmacocinéticas (p.ex., meia-vida mais longa).



Exemplos de Cefalosporinas e Cefamicinas

Antibiótico	Espectro de Atividade
Espectro reduzido (cefalexina, cefalotina, cefazolina, cefapirina, cefradina)	Atividade equivalente à da oxacilina contra bactérias Gram-positivas; alguma atividade contra Gram-negativas (p.ex., E. coli, Klebsiella, Proteus mirabilis)
Cefalosporinas de espectro expandido (cefaclor, cefuroxima)	Atividade equivalente à da oxacilina contra bactérias Gram-positivas; aumento da atividade contra Gram-negativas, incluindo <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> e outras espécies de <i>Proteus</i>
Cefamicinas de espectro expandido (cefotetano, cefoxitina)	Atividade similar à das cefalosporinas de espectro estendido, porém menos suscetíveis às $\beta\text{-}$ lactamases
Amplo espectro (cefixima, cefotaxima, ceftriaxone, ceftazidima)	Atividade equivalente à da oxacilina contra bactérias Gram-positivas; aumento da atividade contra Gram-negativas, incluindo <i>Pseudomonas</i>
Espectro estendido (cefepima, cefpiroma)	Atividade equivalente à da oxacilina contra bactérias Gram-positivas; leve aumento de atividade contra Gram-negativas

Modificações bioquímicas na molécula-base do antibiótico resultaram no desenvolvimento de antibióticos com melhor atividade e propriedades farmacocinéticas. As cefalosporinas têm maior atividade contra bactérias Gram-negativas em comparação com as penicilinas. Esta atividade, por sua vez, varia entre as diferentes "gerações" de cefalosporinas. A atividade das cefalosporinas de **espectro restrito** de primeira geração é limitada principalmente a *Escherichia coli, Klebsiella, Proteus mirabilis*, e cocos Gram-positivos sensíveis à oxacilina. Os antibióticos de **espectro expandido**, cefalosporinas de segunda geração, têm atividade adicional contra *Haemophilus influenzae, Enterobacter, Citrobacter*, espécies de *Serratia*, e alguns anaeróbios, tais como *Bacteroides fragilis*. Os de **amplo espectro**, cefalosporinas de terceira geração, e os de **espectro estendido**, cefalosporinas de quarta geração, são ativos contra a maioria das Enterobacteriaceae e *Pseudomonas aeruginosa*. Cefalosporinas de espectro estendido oferecem a vantagem de apresentar maior estabilidade para β-lactamases. Infelizmente, bactérias Gram-negativas têm desenvolvido de maneira rápida resistência à maioria das cefalosporinas e cefamicinas (sobretudo como resultado da produção de β-lactamase), o que tem significativamente comprometido a utilização de todos esses agentes.

Carbapenêmicos e Monobactâmicos

Outras classes de antibióticos β-lactâmicos (Tabela 17-4) são os **carbapenêmicos** (p.ex., imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) e **monobactâmicos** (p.ex., aztreonam). Os carbapenêmicos são importantes antibióticos de amplo espectro, amplamente prescritos, que são ativos contra muitos grupos de micro-organismos. Em contraste, os monobactâmicos são antibióticos de espectro restrito que atuam apenas contra bactérias aeróbias Gram-negativas. Bactérias anaeróbias e bactérias Gram-positivas são resistentes. A vantagem de antibióticos de espectro restrito é que eles podem ser utilizados para tratar organismos sensíveis, sem alterar a população bacteriana normal, protetora do paciente. Apesar dessa vantagem, os monobactâmicos não são amplamente utilizados.



Tabela 17-4

Outros Antibióticos β-lactâmicos

Antibiótico	Espectro de Atividade
Carbapenêmicos (imipenem, ertapenem, meropenem, doripenem)	Antibióticos de amplo espectro ativos contra a maioria dos Gram-positivos aeróbios e anaeróbios e bactérias Gram-negativas, exceto estafilococos resistentes à oxacilina, a maioria dos <i>Enterococcus faecium</i> e alguns bacilos Gram-negativos (p.ex., <i>Burkholderia, Stenotrophomonas</i> , algumas <i>Pseudomonas</i>)
Monobactâmico (aztreonam)	Ativo contra alguns bacilos Gram-negativos, mas inativo contra cocos Gram-positivos anaeróbios

Ultimamente, a resistência a carbapenemos mediada pela produção de carbapenemases tornou-se muito difundida. Como mencionado anteriormente, as β-lactamases são separadas em quatro classes, de A a D. A carbapenemase da classe A foi encontrada em uma ampla gama de bactérias, incluindo *Pseudomonas* e *Enterobacteriaceae* (a mais comum é a carbapenemase da *Klebsiella pneumoniae* [**KPC**]), a qual torna os organismos que produzem esta carbapenemase resistentes a todos as β-lactâmicos, e só é identificada de forma fiável utilizando métodos moleculares para detectar os genes de resistência. A classe B de carbapenemases são metalo-β-lactamases (requerem zinco para a atividade), as quais estão amplamente distribuídas em bactérias Gram-negativas e também não podem ser detectadas de maneira confiável por meio

de testes de suscetibilidade convencionais. Organismos que produzem carbapenemases da classe B (a mais comum é a **New Delhi metalo-β-lactamase [NDM];** o nome foi dado pela sua origem) são resistentes a todos os antibióticos β -lactâmicos, com a possível exceção do aztreonam. Finalmente, as carbapenemases de classe D são encontradas sobretudo em *Acinetobacter*, não são detectadas por testes de suscetibilidade convencionais e codificam resistência a todos os antibióticos β -lactâmicos. Este grupo de carbapenemases é importante, porque as cepas de *Acinetobacter* que produzem esta carbapenemase são geralmente resistentes a todos os antibióticos, com poucas exceções.

Glicopeptídeos

A vancomicina, originalmente obtida a partir do Streptomyces orientalis, é um glicopeptídeo complexo que inibe a síntese do peptidoglicano da parede celular de bactérias Gram-positivas em crescimento. A vancomicina interage com a porção terminal D-alanina-D-alanina das cadeias laterais, o que interfere estericamente na formação de pontes entre as cadeias de peptidoglicanos. A vancomicina é usada para o tratamento de infecções causadas por estafilococos resistentes à oxacilina e outras bactérias Gram-positivas resistentes a antibióticos β-lactâmicos. A vancomicina é inativa contra bactérias Gramnegativas, porque a molécula é muito grande para atravessar os poros da membrana externa e atingir o local de destino no peptideoglicano. Além disso, alguns organismos são intrinsecamente resistentes à vancomicina (p.ex., Leuconostoc, Lactobacillus, Pediococcus e Erysipelothrix) porque o pentapeptídeo termina em D-alanina-D- lactato, que não se liga à vancomicina. Resistência intrínseca é igualmente encontrada em algumas espécies de enterococos que contêm um resíduo terminal D-alanina-D-serina (i.e., Enterococcus gallinarum, Enterococcus casseliflavus). Finalmente, algumas espécies de enterococos (particularmente E. faecium e Enterococcus faecalis) adquiriram resistência à vancomicina. Os genes para essa resistência (primariamente vanA e vanB) que também medeiam alterações no pentapeptídeo terminal podem ser carreados em plasmídeos e comprometeram seriamente a utilidade da vancomicina para o tratamento de infecções por enterococos. Mais importante, o gene para resistência à vancomicina contido dentro de um transpóson em um plasmídeo conjugativo de multirresistência foi transferido in vivo, a partir de E. faecalis, para um S. aureus multirresistente. O transpóson então transferido a partir do plasmídeo de E. faecalis foi recombinado e integrado no plasmídeo de resistência do S. aureus. Isso resultou em um plasmídeo de S. aureus que codificou resistência para β-lactâmicos, vancomicina, aminoglicosídeos, e outros antibióticos — um plasmídeo que podia ser transferido para outros estafilococos por conjugação. Interessantemente, essas cepas de Staphylococcus têm sido restritas principalmente a Michigan; no entanto, se essa resistência se tornar muito disseminada, as implicações médicas serão graves.

Lipopeptídeos

A daptomicina, um lipopeptídeo cíclico de ocorrência natural produzido por *Streptomyces roseosporus*, liga-se irreversivelmente à membrana citoplasmática, resultando na despolarização da membrana e interrupção dos gradientes iônicos, levando à morte celular. Ela apresenta uma atividade potente contra bactérias Gram-positivas, mas as bactérias Gram-negativas são resistentes à daptomicina, porque o fármaco não consegue penetrar através da parede celular para atingir a membrana citoplasmática. Daptomicina tem boa atividade contra estafilococos, estreptococos e enterococos multirresistentes (incluindo cepas resistentes à vancomicina).

Polipeptídeos

Bacitracina, que foi isolada a partir de *Bacillus licheniformis*, é uma mistura de polipeptídeos utilizada na aplicação de produtos tópicos (p.ex., cremes, pomadas, *sprays*) para o tratamento de infecções da pele causadas por bactérias Grampositivas (em particular aquelas causadas por *Staphylococcus* e *Streptococcus* do grupo A). As bactérias Gram-negativas são resistentes a este agente. A bacitracina inibe a síntese da parede celular interferindo na reciclagem e desfosforilação do transportador lipídico responsável pela translocação dos precursores do peptidoglicano através da membrana citoplasmática para a parede celular. Também pode danificar a membrana citoplasmática bacteriana e inibir a transcrição do ácido ribonucleico (RNA). A resistência ao antibiótico é causada provavelmente pela falha do mesmo em penetrar na célula bacteriana.

As **polimixinas** constituem um grupo de polipeptídeos cíclicos derivados de *Bacillus polymyxa*. Esses antibióticos se inserem nas membranas bacterianas como detergentes, interagindo com lipopolissacarídeos e fosfolipídios na membrana externa, produzindo uma maior permeabilidade e potencial morte celular. **Polimixinas B e E (colistina)** são capazes de causar nefrotoxicidade grave. Assim, o seu uso tem sido limitado, historicamente, a tratamento externo de infecções localizadas, como otite externa, infecções da pele e infecções no olho, causadas por organismos sensíveis. No entanto, visto que alguns micro-organismos, tais como *Acinetobacter* e *Pseudomonas*, são suscetíveis apenas às polimixinas, tais antibióticos são usados para tratar algumas infecções sistêmicas, sendo são mais ativos contra bacilos Gram-negativos, porque as bactérias Gram-positivas não possuem uma membrana externa.

Isoniazida, Etionamida, Etambutol, Cicloserina

Isoniazida, etionamida, etambutol e cicloserina são antibióticos que atuam na parede celular, utilizados para o tratamento de infecções causadas por micobactérias. **Isoniazida** (ácido isonicotínico hidrazida [INH]) é bactericida contra micobactérias com replicação ativa. Embora o mecanismo exato de ação seja desconhecido, sabe-se que a síntese dos ácidos micólicos é

afetada (a dessaturação dos ácidos graxos de cadeia longa e a elongação de ácidos graxos e hidroxilípidos são interrompidas). **Etionamida**, um derivado do INH, também bloqueia a síntese de ácidos micólicos. **Etambutol** interfere na síntese de arabinogalactano na parede da célula, e a cicloserina inibe duas enzimas sintetase, a D-alanina-D-alanina e a alanina racemase, que catalisam a síntese da parede celular. A resistência a esses quatro antibióticos é resultado essencialmente da reduzida absorção do medicamento dentro da célula bacteriana ou da alteração dos locais-alvo.

Inibição da Síntese Proteica

A ação primária dos agentes na segunda maior classe de antibióticos é a inibição da síntese de proteínas (Tabela 17-1).

Aminoglicosídeos

Os antibióticos aminoglicosídeos (Tabela 17-5) consistem em açúcares aminados ligados através de ligações glicosídicas a um anel aminociclitol. Estreptomicina, neomicina, canamicina e tobramicina foram originalmente isoladas de espécies de *Streptomyces*, e gentamicina e sisomicina o foram a partir de espécies de *Micromonospora*. Amicacina e netilmicina são derivados sintéticos da canamicina e sisomicina, respectivamente. Esses antibióticos exercem suas funções atravessando a membrana externa bacteriana (nas bactérias Gram-negativas), parede celular e membrana citoplasmática até chegar ao citoplasma, onde eles inibem a síntese proteica bacteriana por se ligarem irreversivelmente às proteínas da subunidade 30S ribossomal. Essa ligação aos ribossomos tem dois efeitos: a produção de proteínas anormais como resultado de leitura errada do RNA mensageiro (RNAm), e interrupção da síntese de proteína, por liberar prematuramente o ribossoma do RNAm.



Tabela 17-5

Inibidores da Síntese Proteica

Antibiótico	Espectro de Atividade
Aminoglicosídeos (estreptomicina, canamicina, gentamicina, tobramicina, amicacina)	Primariamente usados para tratar infecções por bacilos Gram-negativos; canamicina com atividade limitada; tobramicina um pouco mais ativa que gentamicina contra <i>Pseudomonas</i> ; amicacina mais ativa; estreptomicina e gentamicina combinadas com antibiótico que age na parede celular para tratar infecções enterocócicas; estreptomicina ativa contra micobactérias e alguns bacilos Gram-negativos
Aminociclitol (espectinomicina)	Ativo contra Neisseria gonorrhoeae
Tetraciclinas (tetraciclina, doxiciclina, minociclina)	Antibióticos de amplo espectro ativos contra bactérias Gram-positivas e algumas Gram-negativas (Neisseria e algumas enterobactérias), micoplasmas, clamídias e riquétsias
Glicilciclinas (tigeciclina)	Espectro similar ao das tetraciclinas, mas mais ativo contra bactérias Gram-negativas e micobactérias de crescimento rápido
Oxazolidinona (linezolida)	Ativa contra <i>Staphylococcus</i> (incluindo cepas resistentes à meticilina e intermediárias à vancomicina), <i>Enterococcus, Streptococcus</i> , bacilos Gram-positivos, <i>Clostridium</i> e cocos anaeróbios; não é ativa contra bactérias Gram-negativas
Macrolídeos (eritromicina, azitromicina, claritromicina, roxitromicina)	Antibióticos de amplo espectro ativos contra bactérias Gram-positivas e algumas Gram- negativas, Neisseria, Legionella, Mycoplasma, Chlamydia, Chlamydophila, Treponema e Rickettsia; claritromicina e azitromicina ativas contra algumas micobactérias
Cetolídeos (telitromicina)	Antibióticos de amplo espectro com atividade similar à dos macrolídeos; ativos contra alguns estafilococos resistentes aos macrolídeos e enterococos
Lincosamida (clindamicina)	Atividade de amplo espectro contra cocos Gram-positivos aeróbios e anaeróbios
Estreptograminas (quinopristin/dalfopristin)	Ativas primariamente contra bactérias Gram-positivas, boa atividade contra estafilococos sensíveis e resistentes à meticilina, <i>E. faecium</i> suscetíveis e resistentes à vancomicina (não são ativas contra <i>E. faecalis</i>), <i>Haemophilus</i> , <i>Moraxella</i> e anaeróbios (incluindo <i>Bacteroides fragilis</i>); não são ativas contra enterobactérias e outros bacilos Gram-negativos

Os aminoglicosídeos são bactericidas devido a sua capacidade de se ligar irreversivelmente a ribossomos e são comumente usados para tratar infecções graves causadas por muitos bacilos Gram-negativos (p.ex., Enterobacteriaceae, *Pseudomonas, Acinetobacter*) e alguns organismos Gram-positivos. Penetração através da membrana citoplasmática é um processo aeróbico, dependente de energia; por isso, anaeróbios são resistentes aos aminoglicosídeos, e organismos sensíveis, quando estão em ambiente anaeróbico (p.ex., abscesso), não respondem ao tratamento. Estreptococos e enterococos são resistentes aos aminoglicosídeos, pois estes não conseguem penetrar através da parede celular dessas bactérias. O tratamento desses organismos requer a associação de um aminoglicosídeo com um inibidor da síntese da parede celular (p.ex., penicilina, ampicilina, vancomicina) que facilita a penetração do aminoglicosídeo.

Os aminoglicosídeos mais comumente usados são **amicacina**, **gentamicina** e **tobramicina**. Todos os três aminoglicosídeos são utilizados no tratamento de infecções sistêmicas causadas por bactérias sensíveis Gram-negativas. A amicacina tem a melhor atividade e é frequentemente reservada para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas que são resistentes à gentamicina e à tobramicina. **Estreptomicina** não está prontamente disponível, mas tem sido usada para o tratamento da tuberculose, tularemia, e infecções por estreptococos ou enterococos resistentes à gentamicina (em combinação com uma penicilina).

Resistência à ação antibacteriana de aminoglicosídeos pode desenvolver-se de quatro maneiras: (1) mutação no ponto de ligação ribossômica, (2) penetração diminuída do antibiótico na célula bacteriana, (3) aumento da eliminação do antibiótico a partir da célula, ou (4) modificação enzimática do antibiótico. O mecanismo mais comum de resistência é a modificação enzimática dos aminoglicosídeos. Isso é realizado pela ação de fosfotransferases (aminoglicosídeo fosfotransferase [APH]), adeniltransferases (nucleotídeo adenina translocases [ANT]), e acetiltransferases (acetil-CoA carboxilases [AAC]) nos grupamentos amino e hidroxila do antibiótico. As diferenças na atividade antibacteriana entre os aminoglicosídeos são determinadas pela sua relativa suscetibilidade a essas enzimas. Os outros mecanismos pelos quais as bactérias desenvolvem resistência aos aminoglicosídeos são relativamente incomuns. Resistência causada pela alteração do ribossomo bacteriano requer mutação sistemática de múltiplas cópias dos genes ribossomais que existem na célula bacteriana. Resistência causada pela inibição do transporte do antibiótico na célula bacteriana é por vezes observada em *Pseudomonas*, mas é mais comumente vista com bactérias anaeróbias. Esse mecanismo produz baixo nível de resistência cruzada a todos os aminoglicosídeos. O efluxo ativo deles ocorre apenas em bactérias Gram-negativas e raramente é observado.

Tetraciclinas

As tetraciclinas (Tabela 17-5) são antibióticos bacteriostáticos de amplo espectro, que inibem a síntese de proteínas em bactérias através da ligação reversível às subunidades 30S ribossomais, bloqueando a ligação do aminoacil-transfer RNA (RNAt — RNA transportador) ao complexo subunidade 30S do ribossomo-RNAm. As tetraciclinas (i.e., **tetraciclina, doxiciclina, minociclina**) são eficazes no tratamento de infecções causadas por espécies de *Chlamydia, Mycoplasma*, e *Rickettsia* e outras bactérias Gram-positivas e Gram-negativas selecionadas. Todas as tetraciclinas têm um espectro semelhante de atividade, com a principal diferença entre os antibióticos sendo suas propriedades farmacocinéticas (doxiciclina e minociclina são facilmente absorvidas e têm uma meia-vida longa). Resistência às tetraciclinas pode ser resultado da diminuição da penetração do antibiótico na célula bacteriana, efluxo ativo do antibiótico para fora da célula, alteração do ponto-alvo nos ribossomos, ou modificação enzimática do antibiótico. Mutações no gene cromossômico que codifica a proteína da membrana externa, porina OmpF, podem levar à resistência de baixo nível às tetraciclinas, bem como a outros antibióticos (p.ex., β-lactâmicos, quinolonas, cloranfenicol).

Pesquisadores têm identificado uma variedade de genes em diferentes bactérias que controlam o efluxo ativo das tetraciclinas de dentro célula. Esta é a causa mais comum de resistência. Resistência às tetraciclinas pode também ser resultado da produção de proteínas semelhantes aos fatores de elongação que protegem a subunidade 30S do ribossomo. Quando isso acontece, o antibiótico pode ainda se ligar ao ribossomo, mas a síntese de proteínas não é interrompida.

Glicilciclinas

Tigeciclina, o primeiro representante desta nova classe de antibióticos, é um derivado semissintético da minociclina. Ela inibe a síntese de proteínas, da mesma maneira como as tetraciclinas. A tigeciclina tem uma afinidade de ligação superior ao ribossomo e é menos afetada por efluxo ou modificação enzimática. Tem um amplo espectro de atividade contra as bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e anaeróbias, apesar de *Proteus, Morganella, Providencia* e *P. aeruginosa* geralmente serem resistentes.

Oxazolidinonas

As oxazolidinonas constituem uma classe de antibióticos de espectro restrito, sendo a **linezolida** o agente utilizado atualmente. Linezolida bloqueia a iniciação da síntese de proteínas, interferindo na formação do complexo de iniciação constituído de RNAt, RNAm do ribossomo. O fármaco liga-se à subunidade ribossomal 50S, que distorce o ponto de ligação do RNAt, inibindo assim a formação do complexo de iniciação 70S. Devido a esse mecanismo único, a resistência cruzada com outros inibidores de proteína não ocorre. Linezolida tem atividade contra os estafilococos, estreptococos e enterococos (incluindo as cepas resistentes a penicilina, vancomicina e aminoglicosídeos). Como os enterococos multirresistentes são difíceis de tratar, o uso de linezolida é na maioria das vezes reservado para essas infecções.

Cloranfenicol

Cloranfenicol tem um amplo espectro antibacteriano semelhante ao da tetraciclina, mas não é normalmente usado nos Estados Unidos. A razão para a sua utilização ser limitada é que, além de interferir na síntese de proteínas bacterianas, ele pode interromper a síntese de proteínas nas células da medula óssea humana e produzir discrasias sanguíneas, como anemia aplásica. Cloranfenicol exerce seu efeito bacteriostático por ligação reversível à peptidil-transferase da subunidade 50S ribossômica, bloqueando assim a elongação do peptídeo. Resistência ao cloranfenicol é observada em bactérias que produzem uma cloranfenicol acetiltransferase codificada por plasmídeo, que catalisa a acetilação do grupo 3-hidróxi do

cloranfenicol. O produto é incapaz de se ligar à subunidade 50S. Menos comumente, mutações cromossômicas alteram proteínas (porinas) da membrana externa, fazendo que os bacilos Gram-negativos tornem-se menos permeáveis.

Macrolídeos

Eritromicina, derivada de *Streptomyces erythreus*, é o modelo de antibiótico macrolídeo (Tabela 17-5). A estrutura básica desta classe de antibióticos é um anel lactona macrocíclico ligado a dois açúcares, desosamina e cladinose. Modificação da estrutura de macrolídeo levou ao desenvolvimento de azitromicina, claritromicina e roxitromicina. Macrolídeos exercem seu efeito por se ligarem reversivelmente à subunidade 23S do RNA ribossomal (RNAr) da subunidade ribossomal 50S, que bloqueia a elongação do polipeptídeo. A resistência aos macrolídeos mais geralmente decorre da metilação do 23S RNAr, impedindo a ligação pelo antibiótico. Outros mecanismos de resistência incluem inativação dos macrolídeos por enzimas (p.ex., esterases, fosforilases, glicosidases) ou mutações no 23S RNAr e em proteínas ribossômicas. Macrolídeos são antibióticos bacteriostáticos com um amplo espectro de atividade. Eles têm sido utilizados para tratar infecções pulmonares causadas por espécies de *Mycoplasma*, *Legionella*, *e Chlamydia*, bem como para o tratamento de infecções causadas por espécies de *Campylobacter* e bactérias Gram-positivas em pacientes alérgicos à penicilina. A maioria das bactérias Gram-negativas é resistente aos macrolídeos. Azitromicina e claritromicina também têm sido utilizadas para tratar infecções causadas por micobactérias (p.ex., complexo *Mycobacterium avium*).

Cetolídeos

Cetolídeos são derivados semissintéticos da eritromicina, modificados para aumentar a estabilidade em meio ácido. A **telitromicina** é atualmente o único cetolídeo disponível para uso nos Estados Unidos. Assim como acontece com os macrolídeos, a telitromicina liga-se à subunidade ribossômica 50S e bloqueia a síntese de proteínas. Seu uso atualmente é restrito ao tratamento da pneumonia adquirida na comunidade. É ativa contra *S. pneumoniae, Legionella, Mycoplasma* e *Chlamydia,* mas o uso do fármaco é limitado pela sua toxicidade associada.

Clindamicina

A clindamicina (antibiótico da família da lincosamida) é um derivado de lincomicina, que foi originalmente isolado de *Streptomyces lincolnensis*. Como o cloranfenicol e os macrolídeos, a clindamicina bloqueia a elongação de proteínas através da ligação à subunidade 50S do ribossomo. Ela inibe a peptidil transferase, interferindo na ligação do complexo aminoácido-acil-RNAt. Clindamicina é ativa contra estafilococos e anaeróbios Gram-negativos, mas é geralmente inativa contra as bactérias aeróbias Gram-negativas. A metilação do RNAr 23S é a origem da resistência bacteriana. Pelo fato de tanto a eritromicina quanto a clindamicina poderem induzir essa resistência enzimática (também mediada por plasmídeo), resistência cruzada entre essas duas classes de antibióticos é observada.

Estreptograminas

As estreptograminas são uma classe de peptídeos cíclicos produzidos por espécies de *Streptomyces*. Esses antibióticos são administrados como uma combinação de dois componentes, estreptograminas do grupo A e do grupo B, que atuam de forma sinérgica para inibir a síntese de proteínas. O antibiótico atualmente disponível nesta classe é o **quinupristindalfopristin**. Dalfopristin liga-se à subunidade 50S ribossomal e induz uma alteração conformacional que facilita a ligação de quinupristin. Dalfopristin impede a elongação da cadeia peptídica, e quinupristin promove a liberação precoce das cadeias peptídicas do ribossomo. Esta combinação de fármacos é ativa contra estafilococos, estreptococos e *E. faecium* (mas não contra *E. faecalis*). O uso deste antibiótico tem o sido restrito principalmente ao tratamento de infecções causadas por *E. faecium* resistentes à vancomicina.

Inibição da Síntese de Ácido Nucleico

Quinolonas

As quinolonas (Tabela 17-6) são uma das classes de antibióticos mais amplamente utilizadas. São agentes quimioterápicos sintéticos que inibem a DNA topoisomerase do tipo II (girase) ou topoisomerase do tipo IV, necessárias para a replicação, a recombinação e o reparo do DNA bacteriano. A subunidade A da DNA girase é o principal alvo das quinolonas em bactérias Gram-negativas, enquanto a topoisomerase do tipo IV é o alvo principal nas Gram-positivas. A primeira quinolona utilizada na prática clínica foi o **ácido nalidíxico**. Esse fármaco foi usado para tratar infecções urinárias causadas por uma variedade de bactérias Gram-negativas, mas o rápido desenvolvimento de resistência a ele o fez cair em desuso. Esse medicamento já foi substituído mais recentemente por quinolonas mais ativas, como **ciprofloxacina, levofloxacina** e **moxifloxacina**. Modificação em dois anéis no núcleo originou as quinolonas mais recentes (referidas como fluoroquinolonas). Esses antibióticos têm excelente atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, embora a resistência possa se desenvolver de modo rápido em *Pseudomonas*, estafilococos resistentes à oxacilina e enterococos. Em particular, as novas quinolonas de espectro estendido têm atividade significativa contra bactérias Gram-positivas. Resistência às quinolonas é mediada por mutações cromossômicas nos genes estruturais da DNA girase e topoisomerase do tipo IV. Outros mecanismos incluem a diminuição da absorção dos fármacos causada por mutações nos genes reguladores

da permeabilidade da membrana, e superexpressão de bombas-efluxo que eliminam ativamente o fármaco. Cada um desses mecanismos é mediado principalmente pelo cromossomo.



Quinolonas

Tabela 17-6

Antibiótico	Espectro de Atividade
Espectro reduzido (ácido nalidíxico)	Ativo contra alguns bacilos Gram-negativos; não é ativo contra bactérias Gram-positivas
Amplo espectro (ciprofloxacina, levofloxacina)	Antibióticos de amplo espectro com atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas
Espectro estendido (motifloxacina)	Antibióticos de amplo espectro com atividade aumentada contra bactérias Gram-positivas (particularmente estreptococos e enterococos) quando comparados com as primeiras quinolonas; atividade contra bacilos Gramnegativos similar à da ciprofloxacina e das quinolonas relacionadas

Rifampicina e Rifabutina

Rifampicina, um derivado semissintético da rifamicina B produzida por *Streptomyces mediterranei*, liga-se a RNA polimerase-DNA-dependente e inibe a iniciação da síntese de RNA. A rifampicina é bactericida para *Mycobacterium tuberculosis* e é muito ativa contra cocos Gram-positivos aeróbios, incluindo estafilococos e estreptococos.

Como a resistência pode se desenvolver rapidamente, a rifampicina é geralmente combinada com um ou mais antibióticos eficazes. Resistência à rifampicina em bactérias Gram-positivas é resultado de uma mutação no gene cromossômico que codifica para a subunidade beta da RNA polimerase. Bactérias Gram-negativas são resistentes intrinsecamente à rifampicina, devido à diminuição da absorção do antibiótico hidrófobo. A rifabutina, um derivado da rifamicina, tem um modo e espectro de atividade semelhantes. É particularmente ativa contra *M. avium*.

Metronidazol

O metronidazol foi originalmente inserido como um agente oral para o tratamento da vaginite causada por *Trichomonas*. No entanto, verificou-se que esse fármaco também era eficaz no tratamento de amebíase, giardíase e infecções bacterianas anaeróbias graves (incluindo as causadas por *B. fragilis*). Metronidazol não tem atividade significativa contra bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas. As propriedades antimicrobianas de metronidazol decorrem da redução do seu grupo nitro pela nitrorredutase bacteriana, assim produzindo compostos citotóxicos que rompem o DNA do hospedeiro. A resistência é resultado da diminuição da absorção do antibiótico ou da eliminação dos compostos citotóxicos antes que eles possam interagir com o DNA.

Antimetabólitos

As **sulfonamidas** são antimetabólitos que competem com o ácido *p*-aminobenzoico, impedindo assim a síntese do ácido fólico requerido por certos micro-organismos. Como os organismos dos mamíferos não sintetizam ácido fólico (necessário como uma vitamina), as sulfonamidas não interferem no metabolismo celular dos mamíferos. **Trimetoprim** é outro antimetabólito que interfere no metabolismo do ácido fólico, por inibição da di- hidrofolato redutase, impedindo assim a conversão de di-hidrofolato para tetra-hidrofolato. Essa inibição bloqueia a formação de timidina, algumas purinas, metionina e glicina. Trimetoprim é comumente combinado com sulfametoxazol para produzir uma combinação sinérgica ativa em dois passos na síntese de ácido fólico. **Dapsona** e **ácido** *p*-aminossalicílico também são antifolatos que se provaram úteis para o tratamento de infecções micobacterianas.

As sulfonamidas são eficazes contra uma ampla variedade de organismos Gram-positivos e Gram-negativos, tais como *Nocardia, Chlamydia* e alguns protozoários. As sulfonamidas de curta duração, tais como sulfametoxazol, estão entre os medicamentos de escolha para o tratamento de infecções agudas do trato urinário causadas por bactérias sensíveis, tais como *E. coli*. Sulfametoxazol-trimetoprim é eficaz contra a grande variedade de micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos e é o fármaco de escolha para o tratamento de infecções urinárias agudas e crônicas. A combinação também é eficaz no tratamento de infecções causadas por *Pneumocystis jirovecii*, infecções bacterianas do trato respiratório inferior, otite média e gonorreia descomplicada. A resistência a esses antibióticos pode ser resultado de uma variedade de mecanismos. Bactérias tais como *Pseudomonas* são resistentes devido a barreiras de permeabilidade. A diminuição da afinidade de di-hidrofolato redutase pode ser a fonte de resistência ao trimetoprim. Além disso, as bactérias que usam timidina exógena (p.ex., enterococos) são também intrinsecamente resistentes.

Outros Antibióticos

Clofazimina é um antibiótico lipofílico que se liga ao DNA de micobactérias. É altamente ativa contra *M. tuberculosis*, é um fármaco de primeira linha para o tratamento de infecções causadas por *Mycobacterium leprae*, e tem sido recomendada como um antibiótico secundário para o tratamento de infecções causadas por outras espécies de micobactérias.

Pirazinamida (PZA) é ativa contra *M. tuberculosis* a um pH baixo, tal como o encontrado em fagolisossomas. A forma ativa deste antibiótico é o ácido pirazinoico, produzido quando a **PZA** é hidrolisada no fígado. O mecanismo através do qual a **PZA** exerce seu efeito é desconhecido.

Referências Bibliográficas

Bryskier A. *Antimicrobial agents: antibacterials and antifungals.* Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2005. Kucers A, Bennett NM. *The use of antibiotics: a comprehensive review with clinical emphasis.* ed 4 Philadelphia: Lippincott; 1989. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and practice of infectious diseases.* ed 7 Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010. Versalovic J, Carroll KC, Funke G, et al. *Manual of clinical microbiology.* ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Staphylococcus e Outros Cocos Grampositivos Relacionados

Um soldado fuzileiro naval, de 26 anos, procurou o médico da base militar por estar com lesões purulentas, circundadas por eritema, em ambas as pernas. A suspeita foi de infecção por *Staphylococcus aureus*.

- 1. Quais são as propriedades estruturais características de Staphylococcus?
- 2. Como as citotoxinas produzidas por esses micro-organismos determinam as manifestações clínicas observadas nesse paciente?
- 3. Outras três diferentes toxinas são descritas em cepas de S. aureus. Quais doenças estão associadas a essas toxinas?
- 4. Qual a principal classe de antimicrobianos cuja resistência é, atualmente, comum entre as cepas de *S. aureus* associadas a infecções adquiridas na comunidade?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Staphylococcus aureus

Palavras-gatilho

Coagulase, citotoxinas, toxinas esfoliativas, enterotoxinas, toxina da síndrome do choque tóxico, MRSA

Biologia e Virulência

- Catalase-positiva, cocos Gram-positivos dispostos em aglomerados
- Espécies caracterizadas pela presença de coagulase, proteína A, e espécies específicas de ácido teicoico ribitol com resíduos de *N*-acetilglucosamina ("polissacarídeo A")
- Fatores de virulência incluem componentes estruturais, que facilitam a aderência aos tecidos do hospedeiro e evitam a fagocitose, e uma variedade de toxinas e enzimas hidrolíticas (Tabela 18-3)
- Infecções adquiridas no hospital e na comunidade com *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) são um problema significativo em todo o mundo

Epidemiologia

- Flora normal sobre a pele humana e superfícies mucosas
- Os organismos podem sobreviver em superfícies secas durante longos períodos (devido à camada de peptidoglicano mais espessa e à ausência de membrana externa)
- Disseminação pessoa a pessoa através do contato direto ou exposição a fômites contaminados (p.ex., roupa de cama, vestuário)
- Fatores de risco incluem a presença de um corpo estranho (p.ex., fragmento ósseo, sutura, prótese, cateter), procedimento cirúrgico anterior e o uso de antibióticos que suprimem a flora microbiana normal
- Pacientes de risco para doenças específicas incluem crianças (síndrome da pele escaldada), crianças pequenas com
 higiene pessoal deficiente (impetigo e outras infecções cutâneas), mulheres menstruadas (síndrome do choque tóxico),
 pacientes com cateteres intravasculares (bacteremia e endocardite) ou derivações (meningite) e pacientes com função
 pulmonar comprometida ou uma infecção respiratória viral antecedente (pneumonia)
- Atualmente o MRSA é a causa mais comum de infecções da pele e dos tecidos moles, adquiridas na comunidade

Doenças

• Doenças incluem doenças mediadas por toxinas (intoxicação alimentar, síndrome do choque tóxico, síndrome da pele escaldada), doenças piogênicas (impetigo, foliculite, furúnculos, carbúnculos, infecções de feridas) e outras doenças sistêmicas

Diagnóstico

- A microscopia é útil para infecções piogênicas mas não para infecções hematológicas ou infecções mediadas por toxinas
- Os estafilococos crescem rapidamente quando cultivados em meios não seletivos
- Meios seletivos (p.ex., ágar de sal manitol) podem ser utilizados para recolher S. aureus em amostras contaminadas
- Testes de amplificação de ácidos nucleicos são úteis na triagem de pacientes para portadores de *S. aureus* de meticilinasensíveis (MSSA) e MRSA
- S. aureus é identificado por ensaios bioquímicos (p.ex., coagulase), sondas moleculares, ou espectrometria de massa

Tratamento, Prevenção e Controle

- Infecções localizadas são tratadas por incisão e drenagem; a antibioticoterapia está indicada para infecções sistêmicas
- Terapêutica empírica deve incluir antibióticos ativos contra cepas de MRSA
- Terapia oral pode incluir trimetoprim-sulfametoxazol, doxiciclina ou minociclina, clindamicina, ou linezolida; a vancomicina é o fármaco de escolha para a terapia intravenosa, com daptomicina, tigeciclina, ou linezolida sendo alternativas aceitáveis
- O tratamento é sintomático para pacientes com intoxicação alimentar (embora a fonte da infecção deva ser identificada para que procedimentos de prevenção adequados possam ser adotados)
- Limpeza adequada de feridas e uso de desinfetante ajuda a prevenir infecções
- A lavagem completa das mãos e cobertura da pele exposta ajuda o pessoal médico a prevenir a infecção ou a disseminação para outros pacientes

Estafilococos Coagulase-Negativos

Palavras-gatilho

Oportunista, camada viscosa, subaguda

Biologia e Virulência

- Cocos Gram-positivos, catalase-positivos, coagulase-negativos dispostos em aglomerados
- Relativamente avirulentos, ainda que a produção de uma camada "mucoide" possa permitir a aderência a corpos estranhos (p.ex., cateteres, enxertos, valvas e articulações protéticas, derivações) e a proteção da fagocitose e antibióticos

Epidemiologia

- Flora humana normal na pele e superfícies mucosas
- Os organismos podem sobreviver em superfícies secas durante longos períodos
- Disseminação pessoa a pessoa através do contato direto ou exposição a fômites contaminados, embora a maioria das infecções sejam com os próprios organismos dos pacientes
- Os pacientes estão em risco quando um corpo estranho está presente
- Os organismos são ubíquos, portanto não há limitações geográficas ou sazonais

Doencas

• As infecções incluem endocardite subaguda, infecções por corpos estranhos e infecções do trato urinário

Diagnóstico

• Como as infecções por S. aureus

Tratamento, Prevenção e Controle

- Os antibióticos de escolha são a oxacilina (ou outra penicilina penicilinase-resistente) ou vancomicina para cepas resistentes à oxacilina
- A remoção do corpo estranho é muitas vezes necessária para o sucesso do tratamento
- O tratamento imediato da endocardite ou infecções das derivações é necessário para evitar mais danos no tecido ou formação de complexos imunes

Os cocos Gram-positivos compõem um grupo heterogêneo de bactérias. As características que eles apresentam em comum são: forma esférica, reação à coloração de Gram e ausência de endósporos. A presença ou ausência de catalase, uma enzima que converte o **peróxido de hidrogênio** em água e oxigênio, é usada para subdividir os diferentes gêneros. O gênero catalase-positivo aeróbico mais importante é o *Staphylococcus* (discutido neste capítulo) e os gêneros catalase-negativos aeróbicos mais importantes, *Streptococcus* e *Enterococcus*, são discutidos no próximo capítulo.

Os estafilococos são cocos Gram-positivos que crescem em um padrão característico que se assemelha a um cacho de uvas (Fig. 18-1 e Tabela 18-1); no entanto, os micro-organismos nos espécimes clínicos podem, também, se apresentar como células isoladas, aos pares ou em cadeias curtas. A maioria dos estafilococos é grande, de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, capaz de crescer e potencialmente produzir doença em uma variedade de condições — atmosfera aeróbica e anaeróbica, na presença de uma concentração elevada de sal (p.ex., cloreto de sódio a 10%) e a temperaturas variando desde 18°C a 40°C. Atualmente, o gênero consiste em 49 espécies e 27 subespécies, muitas das quais são encontradas na pele e nas membranas

mucosas dos seres humanos. Algumas espécies têm nichos muito específicos onde são comumente encontradas. Por exemplo, Staphylococcus aureus coloniza as narinas, Staphylococcus capitis é encontrado onde as glândulas sebáceas aparecem em maior número (p.ex., na testa), e Staphylococcus haemolyticus e Staphylococcus hominis são encontrados em áreas onde as glândulas apócrinas estão presentes (p.ex., na axila). Os estafilococos são patógenos importantes para os seres humanos, sendo responsáveis por infecções oportunistas e por um amplo espectro de doenças sistêmicas de gravidade considerável, incluindo infecções da pele, tecidos moles, ossos e trato urinário (Tabela 18-2). As espécies mais comumente associadas a doenças humanas são S. aureus (o membro mais virulento e conhecido do gênero), Staphylococcus epidermidis, S. haemolyticus, Staphylococcus lugdunensis e Staphylococcus saprophyticus. Os membros de S. aureus resistentes à meticilina (MRSA, do inglês, methicillin-resistant Staphylococcus aureus) são conhecidos agentes de infecções graves em pacientes hospitalizados e, também, no ambiente extra-hospitalar em crianças e adultos previamente sadios. As colônias de S. aureus podem apresentar uma coloração amarelo-ouro, como resultado da expressão de pigmentos carotenoides que se formam durante o seu crescimento, daí o nome da espécie. Também é a espécie que produz a enzima coagulase mais encontrada nos seres humanos, sendo essa propriedade um teste diagnóstico útil. Quando uma colônia de S. aureus é suspensa em plasma, a coagulase se liga a um fator sérico, e esse complexo converte fibrinogênio em fibrina, resultando na formação de um coágulo. A maioria das outras espécies estafilocócicas não apresenta essa propriedade e é referida coletivamente como estafilococos coagulase-negativos. Essa é uma distinção útil, porque os estafilococos coagulasenegativos são menos virulentos e causam primariamente infecções oportunistas.

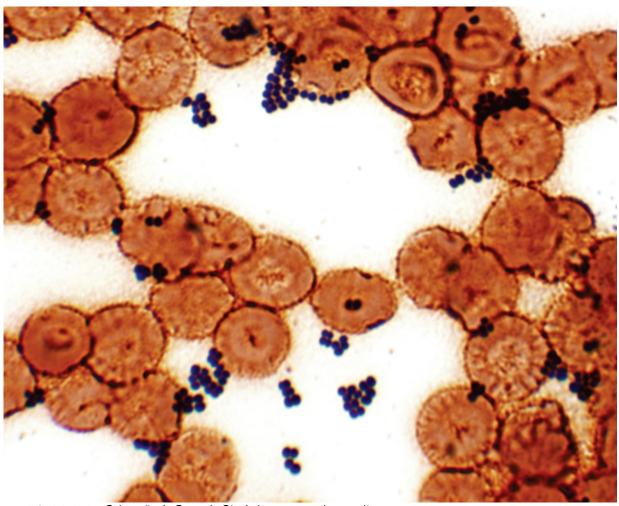


FIGURA 18-1 Coloração de Gram de Staphylococcus em hemocultura.



Estafilococos de Maior Importância Clínica

Micro-organismo	Etimologia
Staphylococcus	Staphylé, cacho de uvas; coccus, grão ou baga (cocos semelhantes a cachos de uva)
S. aureus	aureus, dourado (dourado ou amarelo)
S. epidermidis	epidermidis, pele (da epiderme ou da pele)
S. lugdunensis	Lugdunum, nome latino para Lyon, na França, onde o micro-organismo foi isolado pela primeira vez
S. saprophyticus	sapros, pútrido; phyton, planta (saprofítico ou que cresce em tecido morto)



Tabela 18-2

Espécies mais Comuns de Estafilococos e Doenças Associadas

Micro- organismo	Doença
S. aureus	Mediada por toxina (intoxicação alimentar, síndrome da pele escaldada, síndrome do choque tóxico), cutânea (carbúnculo, foliculite, furúnculo, impetigo, infecções de feridas), outras (bacteremia, endocardite, pneumonia, empiema, osteomielite, artrite séptica)
S. epidermidis	Bacteremia; endocardite; feridas cirúrgicas; infecções do trato urinário; infecções oportunistas de cateteres, derivações, dispositivos protéticos e diálise peritoneal
S. saprophyticus	Infecções do trato urinário, infecções oportunistas
S. lugdunensis	Endocardite, artrite, bacteremia, infecções oportunistas, infecções do trato urinário
S. haemolyticus	Bacteremia, endocardite, infecções de ossos e articulações, infecções do trato urinário, infecções de feridas, infecções oportunistas

Fisiologia e Estrutura

Cápsula e Camada Mucoide

A camada mais externa da parede celular de muitos estafilococos é recoberta por uma **cápsula polissacarídica**. Foram identificados 11 sorotipos capsulares em *S. aureus*. Os sorotipos 1 e 2 estão relacionados com cápsulas muito espessas e colônias de aparência mucoide, mas são raramente associados a doenças humanas. Por outro lado, os sorotipos 5 e 8 estão associados à maioria das infecções humanas. A cápsula tem ação protetora, porque inibe a fagocitose do micro-organismo pelos leucócitos polimorfonucleares (PMN). A maioria dos estafilococos produz, em quantidades variáveis, um filme frouxamente ligado e hidrossolúvel (**camada mucoide ou biofilme**), que consiste em monossacarídeos, proteínas e pequenos peptídeos. Essa substância extracelular possibilita a ligação da bactéria aos tecidos e aos dispositivos médicos ou corpos estranhos, como cateteres, enxertos, próteses valvulares ou articulares e derivações; e ela é particularmente importante para a sobrevivência dos estafilococos coagulase-negativos relativamente não virulentos.

Peptidoglicano e Enzimas Associadas

Uma compreensão da estrutura da parede celular bacteriana Gram-positiva é necessária, porque esta é o alvo de muitos antibióticos importantes. A metade do peso da parede celular corresponde ao **peptidoglicano** e consiste em camadas de cadeias de glicano construídas por 10 a 12 subunidades alternadas de ácido *N*-acetilmurâmico e *N*-acetilglicosamina. Cadeias laterais de oligopeptídeos estão ligadas às subunidades de ácido *N*-acetilmurâmico e, então, unidas por ligações cruzadas através de pontes peptídicas. Ao contrário das bactérias Gram-negativas, o peptidoglicano das Gram-positivas consiste **em muitas camadas unidas por ligações cruzadas**, o que torna a parede celular mais rígida. As enzimas que catalisam a construção das camadas de peptidoglicano são chamadas de proteínas ligadoras de penicilina (PBP, do inglês, *penicillin-binding proteins*), porque são os alvos das penicilinas e de outros antimicrobianos β-lactâmicos. A resistência bacteriana à meticilina, às penicilinas e às cefalosporinas relacionadas é mediada pela aquisição de um gene (*mecA*) o qual codifica para uma proteína ligadora de penicilina alterada (PBP2A), que apresenta baixa afinidade por meticilina, penicilinas relacionadas e cefalosporinas (veja Tratamento, Prevenção e Controle para detalhes adicionais). O **gene** *mecA* está localizado em um cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*, do inglês, *staphylococcal cassette chromosome mec*), sendo que várias sequências gênicas diferentes desse elemento foram descritas. Essa informação é relevante, porque as cepas **MRSA**, consideradas previamente como restritas a infecções adquiridas no ambiente hospitalar,

foram mais recentemente também associadas à comunidade e são responsáveis pela maioria das infecções estafilocócicas. Embora as cepas hospitalares e comunitárias fossem inicialmente distintas, o movimento para dentro e para fora do hospital agora é comum, tornando o controle de infecções hospitalares mais difícil.

O peptidoglicano tem uma atividade semelhante à endotoxina, estimulando a produção de pirogênio endógeno, a ativação do complemento, a produção de interleucina (IL)-1 pelos monócitos e a agregação de PMN (um processo responsável pela formação de abscesso).

Ácidos Teicoicos e Ácidos Lipoteicoicos

Os ácidos teicoicos são os outros componentes importantes da parede celular. Os ácidos teicoicos são **espécie-específicos**, constituídos de polímeros contendo fosfato que são ligados covalentemente aos resíduos de ácido *N*-acetilmurâmico da camada do peptidoglicano ou aos lipídios da membrana citoplasmática (ácidos lipoteicoicos). Apesar dos ácidos teicoicos serem imunógenos fracos, uma resposta de anticorpos específicos é estimulada quando eles estão ligados ao peptidoglicano. Embora a produção de anticorpos tenha sido usada inicialmente como marcador de infecção por *S. aureus*, esse teste pouco sensível foi abandonado nos últimos anos.

Proteínas de Adesão da Superfície

Uma grande coleção de proteínas de superfície foi identificada no *S. aureus*, que são fatores de virulência importantes, pois eles aderem às proteínas da matriz ligadas aos tecidos do hospedeiro (p.ex., fibronectina, elastina, colágeno). Em estafilococos, a maioria está covalentemente ligada ao peptidoglicano da parede celular e são denominadas de **componentes da superfície microbiana que reconhecem moléculas adesivas da matriz** ou proteínas **MSCRAMM** (do inglês, *microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*). A nomenclatura para essas proteínas, em termos individuais, é confusa; por exemplo, a proteína A estafilocócica (*spa*) liga-se ao receptor Fc da imunoglobulina (Ig)G₁, IgG₂ e IgG₄; a proteína A ligadora de fibronectina exerce a função relacionada com o nome (liga-se à fibronectina); e a proteína A de superfície de *S. aureus* ainda não tem função determinada. As MSCRAMM mais bem caracterizadas são a proteína A estafilocócica, as proteínas A e B ligadoras de fibronectina e o fator de aglutinação (*clumping factor*) A e B. As proteínas conhecidas como fator *clumping* (também chamadas de **coagulase**), ligam-se ao fibrinogênio convertendo-o em fibrina insolúvel, levando os estafilococos a se agruparem ou agregarem-se. A detecção dessas proteínas corresponde ao **teste de identificação** primário para *S. aureus*. Duas proteínas MSCRAMMS, proteínas de superfície G e H de *S. aureus*, têm sido associadas a doenças invasivas.

Membrana Citoplasmática

A membrana citoplasmática consiste em um complexo de proteínas, lipídios e uma pequena quantidade de carboidratos. Funciona como uma barreira osmótica para a célula e como ancoradouro para as enzimas celulares biossintéticas e respiratórias.

Patogênese e Imunidade

A capacidade dos estafilococos de causar doença depende da capacidade das bactérias de **evadir** à depuração imunológica, produzir proteínas de superfície que medeiam a **aderência** das bactérias aos tecidos do hospedeiro durante a colonização e produzir a doença através da elaboração de toxinas específicas e enzimas hidrolíticas que conduzem à **destruição de tecidos** (Tabela 18-3). Essas propriedades — evasão imunológica, aderência e destruição tecidual — são comuns à maioria dos organismos patogênicos.



Fatores de Virulência de Staphylococcus aureus

Fatores de Virulência	Efeitos Biológicos
Componentes I	Estruturais
Cápsula	Inibe a quimiotaxia e a fagocitose; inibe a proliferação de células mononucleares
Camada mucoide	Facilita a aderência a corpos estranhos
Peptidoglicano	Confere estabilidade osmótica; estimula a produção de pirogênio endógeno (atividade semelhante à endotoxina); quimiotáxico para leucócitos (formação de abscessos); inibe a fagocitose
Ácido teicoico	Liga a fibronectina
Proteína A	Inibe a eliminação ($clearance$) mediada por anticorpos por se ligar aos receptores Fc de IgG_1 , IgG_2 e IgG_4 ; quimiotáxico para leucócitos; anticomplementar
Toxinas	
Citotoxinas	Tóxicas para muitas células, incluindo eritrócitos, fibroblastos, leucócitos, macrófagos e plaquetas
Toxinas esfoliativas (ETA, ETB)	Serina proteases que clivam as pontes intercelulares no estrato granuloso da epiderme
Enterotoxinas (A- E, G-I)	Superantígenos (estimulam a proliferação de células T e liberação de citocinas); estimulam a liberação de mediadores inflamatórios em mastócitos; aumentam o peristaltismo intestinal e a perda de fluidos, bem como náusea e vômitos
Toxina-1 da síndrome do choque tóxico	Superantígeno (estimula a proliferação de células T e liberação de citocinas); determina o extravasamento de líquidos ou destruição de células endoteliais
Enzimas	
Coagulase	Converte o fibrinogênio em fibrina
Hialuronidase	Hidrolisa o ácido hialurônico no tecido conjuntivo, promovendo a disseminação dos estafilococos nos tecidos
Fibrinolisina	Dissolve os coágulos de fibrina
Lipase	Hidrolisa lipídios
Nuclease	Hidrolisa DNA

Regulação de Genes de Virulência

A expressão de fatores de virulência em estafilococos está sob o controle complexo do **óperon** *agr* (**regulador do gene** *acessório*, do inglês, *accessory gene regulator*). Esse sistema de controle sensível à densidade (densidade bacteriana) permite a expressão de proteínas de adesão e favorece a colonização dos tecidos quando a densidade de bactérias é baixa; e a invasão tecidual, produção de enzimas hidrolíticas e toxinas, quando a densidade é alta. O óperon codifica peptídeos autoindutores (AIP1-4) que se ligam a receptores da superfície celular e regulam a expressão de proteínas com base na densidade populacional. A regulação imune inata da virulência bacteriana é mediada pela apolipoproteína B, a principal proteína estrutural de lipoproteínas de muito baixa e baixa densidades (VLDL, LDL), que se liga aos AIPs e suprime a sinalização *agr*. Assim, sob condições ótimas, a densidade bacteriana é mantida a uma concentração baixa proporcionando as vantagens de estimulação imunológica por colonização estafilocócica sem as consequências de invasão e destruição do tecido.

Defesas contra Imunidade Inata

As opsoninas (IgG, fator de complemento C3) no soro ligam-se aos estafilococos encapsulados, mas a **cápsula** protege as bactérias por inibir a fagocitose dos organismos por PMNs; no entanto, na presença de anticorpos específicos dirigidos contra os estafilococos, C3 aumentado está ligado às bactérias e leva à fagocitose. A **camada mucoide** extracelular também interfere com a fagocitose de bactérias. A capacidade da **proteína A** para se ligar eficazmente às imunoglobulinas impede a depuração imune mediada por anticorpo do *S. aureus*. Adicionalmente, a proteína extracelular A pode se ligar a anticorpos e formar complexos imunes, com o subsequente consumo do complemento.

Toxinas Estafilocócicas

S. aureus produz muitas toxinas, incluindo cinco citolíticas ou que danificam membranas (alfa, beta, delta, gama e leucocidina Panton-Valentine [PVL]), duas toxinas esfoliativas (A e B), numerosas enterotoxinas (A a E, G a X, com diversas variantes) e a toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1, do inglês, *toxic shock syndrome toxin-1*). As toxinas citolíticas foram descritas como hemolisinas, mas esse é um termo impróprio, uma vez que a atividade das quatro primeiras toxinas não é restrita apenas às hemácias, e a PVL é incapaz de causar lise em eritrócitos. As citotoxinas podem causar lise em neutrófilos, o que resulta na liberação de enzimas lisossômicas que, subsequentemente, danificam os tecidos circunjacentes. Uma citotoxina, a PVL, tem sido relacionada com infecções pulmonares e cutâneas graves.

A toxina esfoliativa A, as enterotoxinas e a TSST-1 pertencem a uma classe de polipeptídeos conhecidos como **superantígenos**. Essas toxinas se ligam às moléculas de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC II) presentes nos macrófagos, que por sua vez interagem com as regiões variáveis da subunidade β dos receptores específicos de células **T** (**V** β **TCR**, do inglês, *variable regions of* β -subunit of *T-cell receptor*). Isso resulta na intensa liberação de citocinas, tanto por macrófagos (IL-1 β e fator de necrose tumoral [TNF]- α), quanto por linfócitos T (IL-2, interferon [IFN]- γ , e TNF- β). A liberação de TNF- α e TNF- β está relacionada com hipotensão e choque, enquanto a febre está associada à liberação de IL-1 β .

Citotoxinas

Toxina alfa, que pode ser codificada tanto no cromossomo como em plasmídeos, é um polipeptídeo de 33.000 Da produzido pela maioria das cepas de *S. aureus* que causam doença humana. A toxina rompe a musculatura lisa dos vasos sanguíneos e é tóxica para muitos tipos de células, incluindo eritrócitos, leucócitos, hepatócitos e plaquetas. A toxina alfa se liga à superfície celular, se agrega a um heptâmero (7 moléculas de toxina) formando um poro de 1 a 2 nm, e permite o rápido efluxo de K⁺ e influxo de Na⁺, Ca²⁺ e outras moléculas pequenas, o que leva ao desequilíbrio osmótico, turgescência e consequente lise celular. Acredita-se que a toxina alfa seja um importante mediador de dano tecidual na doença estafilocócica.

Toxina beta, também chamada esfingomielinase C, é uma proteína termolábil de 35.000 Da produzida pela maioria das cepas de *S. aureus*, que causa doença em seres humanos e animais. Esta enzima apresenta especificidade para esfingomielina e lisofosfatidilcolina, e é tóxica para uma variedade de células, incluindo eritrócitos, fibroblastos, leucócitos e macrófagos. Nas células suscetíveis, catalisa a hidrólise dos fosfolipídios de membrana, sendo a lise proporcional à concentração de esfingomielina exposta na superfície celular. Acredita-se que este fato seja responsável pelas diferenças na suscetibilidade das espécies para a toxina. O efeito sobre os eritrócitos ocorre principalmente a baixas temperaturas, de modo que essa toxina pode ser menos eficiente que as outras hemolisinas.

Toxina delta é um polipeptídeo de 3.000 Da produzido por quase todas as cepas de *S. aureus* e por outros estafilococos (p.ex., *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*). A toxina tem um espectro amplo de atividade citolítica, afetando eritrócitos, muitas outras células de mamíferos e membranas intracelulares. Essa toxicidade para membranas, relativamente não específica, é consistente com a possibilidade de que a toxina atue como um surfactante, rompendo membranas celulares por meio de uma ação semelhante à de um detergente.

Toxina gama (produzida por quase todas as cepas de *S. aureus*) e **leucocidina Panton-Valentine** são toxinas compostas por duas cadeias polipeptídicas: o componente S (proteínas que eluem vagarosamente; *slow-eluting proteins*) e o componente F (proteínas que eluem rapidamente; *fast-eluting proteins*). Foram identificadas três proteínas S (HlgA [hemolisina gama A], HlgC e LukS-PV) e duas proteínas F (HlgB, LukF-PV). As bactérias capazes de produzir ambas as toxinas podem codificar todas essas proteínas, com potencial para produzir seis toxinas distintas. Todas as seis podem lisar neutrófilos e macrófagos, enquanto a maior atividade hemolítica está associada a HlgA/HlgB, HlgC/HlgB e HlgA/LukF-PV. A toxina leucocidina PV (LukS-PV/LukF-PV) é leucotóxica, mas não exibe atividade hemolítica. A lise celular pelas toxinas gama e leucocidinas PV é mediada pela formação de poros, com subsequente aumento da permeabilidade aos cátions e instabilidade osmótica.

Toxinas Esfoliativas

Síndrome da pele escaldada estafilocócica (SSSS, do inglês, staphylococcal scalded skin syndrome), um espectro de doenças caracterizadas por dermatite esfoliativa, é mediada pelas toxinas esfoliativas. A prevalência da produção de toxina nas cepas de *S. aureus* varia geograficamente, mas geralmente é menor do que 5%. Duas formas distintas de toxina esfoliativa (ETA e ETB) foram identificadas, e qualquer uma pode causar a doença. A ETA é termoestável, e o gene que a codifica está presente em um bacteriófago, enquanto a ETB é termolábil e associada a um plasmídeo. As toxinas são serina proteases que quebram a desmogleína-1, um dos membros de uma família de estruturas de adesão celular (desmossomos) responsável por formar pontes intercelulares no estrato granuloso da epiderme. As toxinas não são associadas à citólise ou inflamação, de modo que normalmente não são encontrados estafilococos e leucócitos na camada da epiderme atingida (isto é um importante indício para o diagnóstico). Após a exposição da epiderme à toxina, são desenvolvidos anticorpos neutralizantes protetores, o que leva à resolução do processo tóxico. A SSSS é mais frequente em crianças de menor idade e ocorre raramente em crianças mais velhas e em adultos.

Enterotoxinas

Numerosas distintas **enterotoxinas estafilocócicas** já foram identificadas (A a X), sendo a enterotoxina A mais comumente associada à intoxicação alimentar. As enterotoxinas C e D são encontradas em produtos lácteos contaminados, e a

enterotoxina B causa a enterocolite pseudomembranosa estafilocócica. Muito pouco se sabe a respeito da prevalência ou importância clínica das outras enterotoxinas. As enterotoxinas são estruturalmente perfeitas para causar doenças veiculadas por alimentos — são termoestáveis a 100°C por 30 minutos e resistentes à hidrólise pelas enzimas gástricas e do jejuno. Assim, uma vez que um produto alimentar tenha sido contaminado com estafilococo produtor de enterotoxina e as toxinas tenham sido produzidas, nem um reaquecimento brando do alimento nem a exposição aos ácidos gástricos serão protetores. Essas toxinas são produzidas por 30% a 50% de todas as cepas de *S. aureus*. O mecanismo preciso da atividade tóxica não é compreendido. Essas toxinas são superantígenos, capazes de induzir ativação não específica de células T e intensa liberação de citocinas. As alterações histológicas características no estômago e no jejuno incluem a infiltração de neutrófilos no epitélio e na lâmina própria subjacente, com perda das bordas ciliadas das células epiteliais no jejuno. Acredita-se que o estímulo de liberação de mediadores inflamatórios dos mastócitos seja responsável pela êmese, que é característica da intoxicação alimentar por estafilococos.

Toxina-1 da Síndrome do Choque Tóxico

TSST-1 é uma exotoxina de 22.000 Da, resistente ao calor e à proteólise, e codificada no cromossomo. Estima-se que 90% das cepas de *S. aureus* responsáveis pela síndrome do choque tóxico (TSS, do inglês, *toxic shock syndrome*) associada à menstruação (uso de absorventes internos) e que metade das cepas responsáveis por outras formas de TSS produzam a TSST-1. A enterotoxina B e (raramente) a enterotoxina C são responsáveis por aproximadamente metade dos casos de TSS não relacionados com a menstruação. A expressão de TSST-1 *in vitro* requer uma concentração elevada de oxigênio e pH neutro. Esta é provavelmente a razão pela qual a TSS é relativamente incomum se comparada com a incidência de infecções de feridas por *S. aureus* (onde o ambiente de um abscesso é relativamente anaeróbio e ácido). TSST-1 é um superantígeno que estimula a liberação de citocinas, determinando, em baixas concentrações, o escape de células endoteliais e produzindo efeito citotóxico para as células em altas concentrações. A habilidade da TSST-1 de penetrar nas barreiras mucosas, mesmo quando a infecção permanece localizada na vagina ou no local de uma ferida, é responsável pelos efeitos sistêmicos de TSS. A morte nos pacientes com TSS é causada por choque hipovolêmico que leva à falência múltipla de órgãos.

Enzimas Estafilocócicas

As cepas de *S. aureus* possuem duas formas de **coagulase**: ligada e livre. A coagulase ligada à parede celular dos estafilococos pode converter diretamente fibrinogênio em fibrina insolúvel e causar a agregação dos estafilococos. A coagulase livre alcança o mesmo resultado reagindo com um fator globulina do plasma (**fator que reage com a coagulase**) para formar estafilotrombina, um fator semelhante à trombina. Esse fator catalisa a conversão de fibrinogênio em fibrina insolúvel. O papel da coagulase na patogênese da doença é especulativo, mas pode levar à formação de uma camada de fibrina ao redor do abscesso causado por estafilococos, localizando a infecção e protegendo o micro-organismo da fagocitose. Algumas outras espécies de estafilococos produzem coagulase, mas são principalmente patógenos animais e raramente isoladas de infecções humanas.

Os estafilococos produzem uma variedade de outras enzimas que hidrolisam componentes dos tecidos do hospedeiro e ajudam na disseminação bacteriana. **Hialuronidase** hidrolisa os ácidos hialurônicos presentes na matriz acelular do tecido conjuntivo. **Fibrinolisina**, também chamada de *estafiloquinase*, pode dissolver os coágulos de fibrina. Todas as cepas de *S. aureus* e mais de 30% das cepas de *Staphylococcus* coagulase-negativo produzem várias **lipases** diferentes que hidrolisam lipídios e asseguram a sobrevivência dos estafilococos nas áreas sebáceas do corpo. *S. aureus* também produz uma **nuclease** termoestável, que pode hidrolisar o DNA viscoso.

Epidemiologia

Os estafilococos são **ubíquos**. Todas as pessoas apresentam estafilococos coagulase-negativos na pele, e a colonização transitória das dobras úmidas da pele com *S. aureus* é comum. A colonização do coto umbilical, da pele e da região perineal de recém-nascidos com *S. aureus* é comum. *S. aureus* e estafilococos coagulase-negativos também são encontrados na orofaringe e nos tratos gastrointestinal e urogenital. A colonização persistente ou por períodos curtos de tempo com *S.aureus* em crianças mais velhas e em adultos é mais comum na **nasofaringe** anterior do que na orofaringe. Aproximadamente 15% dos adultos saudáveis normais são portadores persistentes de *S. aureus* na nasofaringe, com uma incidência maior em pacientes hospitalizados, médicos, indivíduos com doenças eczematosas da pele e aqueles que usam agulhas regularmente, tanto de forma ilícita (p.ex., usuários de drogas) quanto por razões médicas (p.ex., pacientes com diabetes insulina-dependente, pacientes que recebem injeções para alergia ou aqueles que estejam realizando hemodiálise). A aderência do micro-organismo ao epitélio mucoso é regulada pelas adesinas da superfície celular dos estafilococos.

Pelo fato de os estafilococos serem encontrados na pele e na nasofaringe, a disseminação da bactéria é comum e responsável por muitas das infecções adquiridas no hospital. Os estafilococos são suscetíveis a temperatura alta, desinfetantes e soluções antissépticas; entretanto, podem sobreviver em superfícies secas por longos períodos. Os microorganismos podem ser transferidos para um indivíduo suscetível através do contato direto ou através do contato com fômites (p.ex., vestimentas e roupas de cama contaminadas). Portanto, a equipe clínica deve utilizar técnicas apropriadas para lavagem das mãos a fim de prevenir a transferência de cepas de estafilococos deles para os pacientes e entre os pacientes.

No início nos anos 1980, cepas de MRSA se disseminaram rapidamente para pacientes hospitalizados suscetíveis, alterando significativamente a terapia disponível para a prevenção e tratamento das infecções estafilocócicas. Apesar de as infecções por MRSA serem relativamente incomuns entre indivíduos sadios na comunidade, uma dramática mudança foi observada em 2003, quando novas cepas de MRSA foram descritas como responsáveis por surtos de infecções cutâneas e pneumonia grave adquiridas na comunidade. Curiosamente, essas cepas não eram relacionadas com as que circulavam nos hospitais e eram geneticamente únicas em cada região geográfica distinta. Infelizmente, as cepas da comunidade mudaram-se para hospitais na última década, complicando as medidas de controle previamente estabelecidas. Os pacientes hospitalizados estão agora suscetíveis a infecções causadas por cepas com as quais eles estavam colonizados na comunidade, assim como pelas cepas adquiridas no hospital.

Doenças Clínicas (Quadro 18-1)

Staphylococcus aureus

S. aureus causa doença através da produção de toxinas ou da invasão direta e destruição do tecido. As manifestações clínicas de algumas doenças estafilocócicas são quase que exclusivamente o resultado da atividade de toxinas (p.ex., síndrome da pele escaldada estafilocócica, intoxicação alimentar e síndrome do choque tóxico), enquanto outras doenças resultam da proliferação do micro-organismo, levando à formação de abscessos e destruição de tecidos (p.ex., infecções cutâneas, endocardite, pneumonia, empiema, osteomielite, artrite séptica) (Fig. 18-2). Na presença de corpos estranhos (p.ex., pinos, cateteres, derivações, válvulas ou articulações protéticas), um número significativamente menor de estafilococos é necessário para estabelecer doença. Do mesmo modo, pacientes com doenças congênitas associadas a uma resposta quimiotática ou fagocítica comprometida (p.ex., síndrome de Job, síndrome de Wiskott-Aldrich, doença granulomatosa crônica) são mais suscetíveis a infecções estafilocócicas.

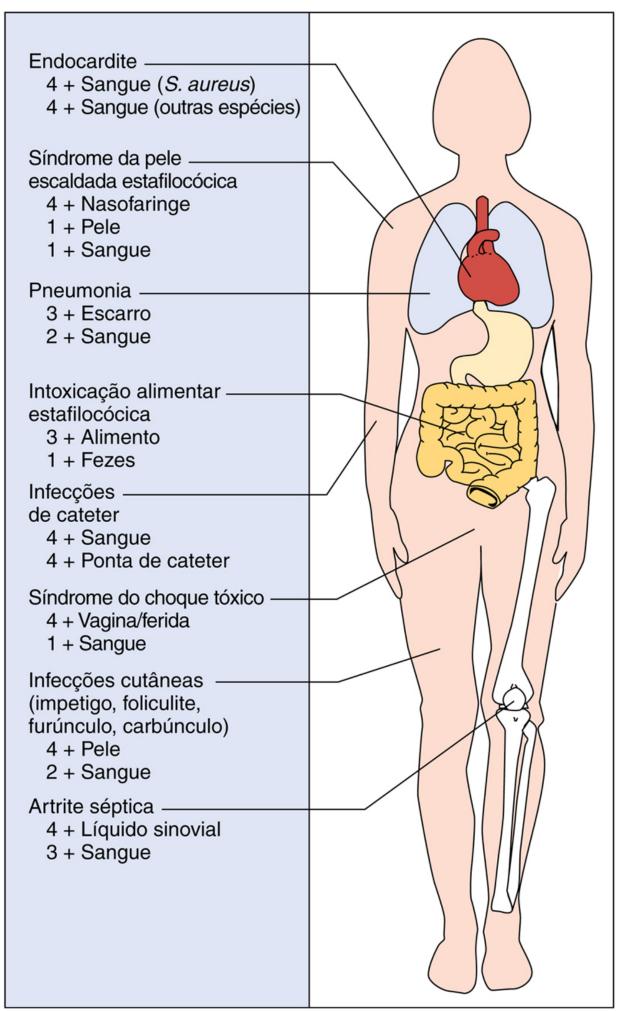


FIGURA 18-2 Doenças estafilocócicas. Isolamento de estafilococos de pontos de infecção. *1* + , Menos de 10% de culturas positivas; *2* + , 10% a 50% de culturas positivas; *3* + , 50% a 90% de culturas positivas; *4* + , mais de 90% de culturas positivas.



Quadro 18-1 Doenças Estafilocócicas: Resumos Clínicos

Staphylococcus aureus

Doenças Mediadas por Toxinas

Síndrome da pele escaldada: descamação disseminada do epitélio em crianças; bolhas sem micro-organismos ou leucócitos

Intoxicação alimentar: após o consumo de alimento contaminado com a enterotoxina termoestável, início rápido com vômito severo, diarreia e espasmos abdominais, com resolução dentro de 24 horas

Choque tóxico: intoxicação multissistêmica caracterizada inicialmente por febre, hipotensão e uma erupção eritematosa macular difusa; mortalidade elevada na ausência de terapia antimicrobiana e da eliminação do foco de infecção

Infecções Supurativas

Impetigo: infecção cutânea localizada caracterizada por vesículas preenchidas de pus sobre uma base eritematosa **Foliculite:** impetigo envolvendo os folículos pilosos

Furúnculos ou pústulas: nódulos cutâneos grandes, doloridos e preenchidos de pus

Carbúnculo: coalescência de furúnculos, que se estende para o tecido subcutâneo com evidência de doença sistêmica (febre, calafrios, bacteremia)

Bacteremia e endocardite: disseminação da bactéria no sangue a partir de um foco de infecção; a endocardite é caracterizada pelo dano no revestimento endotelial do coração

Pneumonia e empiema: consolidação e formação de abscesso nos pulmões; ocorrem em indivíduos muito jovens e em idosos, e em pacientes com doenças de base ou doença pulmonar recente; também é agora reconhecida uma forma grave de pneumonia necrosante com choque séptico e mortalidade elevada

Osteomielite: destruição dos ossos, principalmente da região da metáfise de ossos longos

Artrite séptica: articulação eritematosa dolorida com coleção de material purulento no espaço articular

Espécies de Staphylococus Coagulase-negativos

Infecções de feridas: caracterizadas por eritema e pus no local de uma ferida traumática ou cirúrgica; infecções com corpos estranhos podem ser causadas por *S. aureus* e por estafilococos coagulase-negativos

Infecções do trato urinário: disúria e piúria em mulheres jovens sexualmente ativas (*S. saprophyticus*), em pacientes com cateteres urinários (outros estafilococos coagulase-negativos), ou após a contaminação do trato urinário por bacteremia (*S. aureus*)

Infecções de cateteres e derivações: resposta inflamatória crônica às bactérias aderidas a um cateter ou derivação (mais comumente com estafilococos coagulase-negativos)

Infecções de dispositivos protéticos: infecção crônica de dispositivo caracterizada por dor localizada e falha mecânica do dispositivo (mais comumente com estafilococos coagulase-negativos)

Síndrome da Pele Escaldada Estafilocócica (SSSS)

Em 1878, Gottfried Ritter von Rittershain descreveu 297 casos de crianças com menos de um mês de idade que apresentaram dermatite esfoliativa bolhosa. A doença descrita, agora chamada de **doença de Ritter** ou SSSS, é caracterizada pelo aparecimento abrupto de um eritema perioral localizado (vermelhidão e inflamação ao redor da boca) que se espalha por todo o corpo em 2 dias. Uma leve pressão desloca a pele (sinal de Nikolsky positivo), e grandes vesículas ou **bolhas cutâneas** se formam logo depois, seguidas da descamação do epitélio (Fig. 18-3). As bolhas contêm um fluido claro, mas não apresentam micro-organismos ou leucócitos, consistente com o fato de que a doença é causada pela toxina bacteriana. O epitélio se torna intacto novamente dentro de 7 a 10 dias, quando aparecem os anticorpos contra a toxina. Não deixa cicatrizes, porque somente a camada superior da epiderme é destruída. É uma doença que atinge, principalmente, os recémnascidos e crianças pequenas, com uma taxa de mortalidade menor que 5%. A ocorrência de óbito é resultado de infecções bacterianas secundárias nas áreas descamadas. As infecções em adultos na maioria das vezes estão relacionadas com indivíduos imunocomprometidos ou pacientes com doenças renais, e, nesses casos, a taxa de mortalidade é elevada, atingindo 60%.



FIGURA 18-3 Síndrome da pele escaldada estafilocócica. (De Mandell G, Bennett J, Dolin R: Principles and practice of infectious disease, ed 6, Philadelphia, 2005, Churchill Livingstone.)

Impetigo bolhoso é uma forma localizada da SSSS. Nessa síndrome, cepas específicas de *S. aureus* produtoras de toxina (p.ex., fagotipo 71) estão associadas à formação de bolhas superficiais na pele (Fig. 18-4). Diferentemente dos indivíduos com manifestações disseminadas de SSSS, os pacientes com impetigo bolhoso têm bolhas que apresentam cultura positiva para o micro-organismo. O eritema não se estende para além das bordas das bolhas, e o sinal de Nikolsky não está presente. A doença ocorre primariamente em bebês e crianças pequenas e é muitíssimo contagiosa.



FIGURA 18-4 Impetigo bolhoso, uma forma localizada da síndrome da pele escaldada estafilocócica. (De Emond RT, Rowland HAK, Welsby P: Colour atlas of infectious diseases, ed 3, London, 1995, Wolfe.)

Intoxicação Alimentar por Estafilococos (Caso Clínico 18-1)

A intoxicação alimentar estafilocócica, uma das doenças mais comuns entre as que são transmitidas por alimentos, é mais uma **intoxicação** que uma infecção. A doença é causada pela toxina bacteriana presente no alimento e não pela ação direta

do micro-organismo no paciente. Os alimentos mais comumente contaminados são as carnes processadas, como presunto e carne de porco salgada, bolos recheados com creme, saladas de batata e sorvetes. O crescimento de *S. aureus* em carnes salgadas é consistente com a sua capacidade de crescer na presença de concentrações elevadas de sal. Ao contrário de muitas outras intoxicações alimentares em que um reservatório animal é importante, a de origem estafilocócica resulta da contaminação do alimento por um portador humano. Embora a contaminação possa ser prevenida, não sendo permitido que indivíduos com a evidência de infecções de pele por estafilococos atuem no preparo de alimentos, aproximadamente metade dos casos tem origem a partir da colonização de nasofaringe em portadores assintomáticos. Após os estafilococos terem sido introduzidos no alimento (através de um espirro ou de mãos contaminadas), este deve permanecer à temperatura ambiente ou aquecido, para que o micro-organismo cresça e libere a toxina. O alimento contaminado não apresenta aparência nem gosto de alimento deteriorado. O aquecimento subsequente do alimento mata a bactéria, mas não inativa a toxina termoestável.



Caso Clínico 18-1 Intoxicação Alimentar Estafilocócica

Um relato publicado no *Morbidity and Mortality Weekly Report* do Centers for Disease Control and Prevention (*MMWR*46:1189-1191, 1997) ilustra diversos aspectos importantes da intoxicação alimentar estafilocócica. Um total de 18 pessoas que participavam de uma festa de aposentadoria adoeceram cerca de 3 a 4 horas após ingerirem alimentos. Apenas poucos indivíduos apresentaram febre e dor de cabeça (11%). Os sintomas duraram em média 24 horas. A doença foi associada à ingestão de presunto na festa. Uma amostra do presunto cozido foi positiva para a enterotoxina estafilocócica do tipo A. Uma das pessoas que prepararam os alimentos cozinhou o presunto em sua residência, transportou-o para o local e o fatiou enquanto ainda estava quente, e então refrigerou o presunto em um recipiente plástico grande coberto com papel-alumínio. O presunto foi servido frio no dia seguinte. O cozimento do presunto mataria qualquer *S. aureus* contaminante, por isso é provável que o presunto tenha sido contaminado após o cozimento. O atraso entre a refrigeração do presunto e o fato de ter sido armazenado em um único recipiente permitiram a proliferação do micro-organismo e a produção da enterotoxina. A toxina do tipo A é a mais comumente associada à doença humana. O rápido aparecimento dos sintomas e a curta duração de náuseas, vômitos e diarreia são típicos dessa doença. Deve ser tomado cuidado para prevenir a contaminação de carnes salgadas, como presunto, porque o reaquecimento posterior do alimento não vai inativar a toxina termoestável.

Após a ingestão do alimento contaminado, o início da doença é abrupto e rápido, com um período médio de incubação de 4 horas, que, mais uma vez, é condizente com uma doença mediada por toxina pré-formada. Além disso, a toxina não é produzida por estafilococos ingeridos, assim a doença é de curso rápido, com os sintomas geralmente durando menos de 24 horas. Vômitos intensos, diarreia e dores abdominais ou náuseas são as características da intoxicação alimentar por estafilococos. Podem ocorrer, também, suores e dores de cabeça, mas não é observada febre. A diarreia é aquosa e não sanguinolenta, e pode ocorrer desidratação em decorrência da considerável perda de fluidos.

Caso não tenham sido mortos durante o preparo, os micro-organismos produtores de toxina podem ser cultivados a partir do alimento contaminado. As enterotoxinas são termoestáveis, assim alimentos contaminados podem ser testados quanto à sua presença em unidade de saúde pública ou laboratórios de referência; no entanto, esses testes raramente são realizados.

O tratamento é para aliviar os espasmos abdominais e a diarreia, e para repor fluidos. A antibioticoterapia não é indicada; como mencionado, a doença é mediada pela toxina pré-formada, não pela multiplicação dos micro-organismos. Anticorpos neutralizantes para a toxina podem ser protetores, e uma proteção cruzada limitada ocorre entre as diferentes enterotoxinas. A imunidade é de curta duração, o que significa que episódios subsequentes de intoxicação alimentar por estafilococos podem ocorrer, particularmente com enterotoxinas sorologicamente distintas.

Certas cepas de *S. aureus* podem causar **enterocolite**, cujas manifestações clínicas são diarreia aquosa, espasmos abdominais e febre. A maioria das cepas que causam essa doença produzem tanto enterotoxina A quanto o bicomponente leucotoxina LukE/LukD. A enterocolite ocorre principalmente em pacientes que tenham recebido antibioticoterapia de amplo espectro, que suprime a microbiota do cólon, permitindo o crescimento de *S. aureus*. O diagnóstico da enterocolite estafilocócica só pode ser confirmado após terem sido excluídas as causas mais comuns de infecção (p.ex., colite por *Clostridium difficile*). Em geral, grandes quantidades de estafilococos estão presentes nas fezes dos pacientes atingidos pela doença, enquanto as bactérias Gram-negativas da microbiota normal estão ausentes. Leucócitos fecais são observados, e placas esbranquiçadas apresentando ulcerações são vistas na mucosa do cólon.

Síndrome do Choque Tóxico (TSS; Caso Clínico 18-2)

O primeiro surto dessa doença ocorreu em 1928 na Austrália, onde a doença acometeu 21 crianças, 12 das quais morreram após a injeção com uma vacina contaminada com *S. aureus*. Cinquenta anos mais tarde, J.K. Todd observou o que ele chamou de **síndrome do choque tóxico** em sete crianças com doença sistêmica, e os primeiros relatos de TSS em mulheres no período menstrual foram publicados no verão de 1980. Esses relatos foram seguidos de um dramático aumento na incidência de TSS, particularmente em mulheres. Subsequentemente, foi descoberto que as cepas de *S. aureus* produtoras de TSST-1 poderiam se multiplicar de maneira rápida em tampões hiperabsorventes e liberar toxina. Após a retirada do

mercado desses tampões, a incidência da doença, sobretudo em mulheres no período menstrual, diminuiu rapidamente. Hoje em dia, menos de 100 casos de TSS são registrados por ano nos Estados Unidos. Embora tenha sido originalmente relatado que estafilococos coagulase-negativos poderiam causar TSS, considera-se atualmente que a causa dessa doença seja restrita ao *S. aureus*.



Caso Clínico 18-2 Síndrome do Choque Tóxico Estafilocócico

Todd et al. (*Lancet* 2:1116-1118, 1978) foram os primeiros pesquisadores a descrever uma doença pediátrica e a nomearam de "síndrome do choque tóxico" (TSS). Esse caso ilustra o curso clínico da doença. Uma jovem do sexo feminino, com 15 anos, foi admitida no hospital com uma história de faringite e vaginite associadas a vômito e diarreia aquosa ao longo de 2 dias. Ela estava febril e hipotensa no momento da admissão, com erupção eritematosa difusa em todo o corpo. Testes laboratoriais foram consistentes com acidose, oligúria e coagulação intravascular sistêmica com trompocitopenia grave. A radiografia de tórax demonstrou infiltrado bilateral sugestivo de "pulmão de choque". Ela foi admitida na unidade de tratamento intensivo hospitalar, onde foi estabilizada e apresentou melhora gradual no período de 17 dias. No terceiro dia, teve início uma descamação na face, tronco e extremidades, que progrediu no 14° dia para a palma das mãos e sola dos pés. Todas as culturas foram negativas, exceto as de orofaringe e vagina, nas quais *Staphylococcus aureus* foi isolado. Este caso ilustra a apresentação inicial da TSS, a toxicidade em vários órgãos e o longo período de recuperação.

A doença tem início com o crescimento localizado de cepas de *S. aureus* produtor de toxina no canal vaginal ou em uma ferida, seguido da liberação da toxina para a corrente sanguínea. A produção de toxina requer uma atmosfera aeróbica e pH neutro. As manifestações clínicas se iniciam de forma abrupta e incluem febre, hipotensão e uma erupção eritematosa macular difusa. Vários sistemas de órgãos (p.ex., nervoso central, gastrointestinal, hematológico, hepático, muscular e renal) são também envolvidos, e a pele inteira descama, incluindo a palma das mãos e a sola dos pés (Fig. 18-5). Uma forma particularmente virulenta da síndrome do choque tóxico é a **púrpura fulminante**. Essa doença é caracterizada por extensas lesões purpúricas na pele, febre, hipotensão e coagulação intravascular disseminada. Anteriormente, a púrpura fulminante era sobretudo associada aos quadros mais graves das infecções causadas por *Neisseria meningitidis*.



FIGURA 18-5 Síndrome do choque tóxico. É mostrado um caso fatal de infecção com comprometimento dos tecidos mole e cutâneo.

Considerando que a etiologia e a epidemiologia dessa doença tornaram-se mais conhecidas, as altas taxas de mortalidade inicialmente relatadas foram reduzidas a cerca de 5%. Todavia, a menos que o paciente seja especificamente tratado com um antibiótico efetivo, o risco de doença recorrente é tão alto quanto 65%. Estudos sorológicos demonstraram que mais de 90% dos adultos têm anticorpos para TSST-1; no entanto, mais de 50% dos pacientes com TSS não desenvolvem anticorpos

protetores após a regressão da doença. Esses pacientes desprotegidos apresentam um risco significativo para a **doença** recorrente.

Infecções Cutâneas

Infecções estafilocócicas piogênicas localizadas incluem impetigo, foliculite, furúnculos e carbúnculos. Impetigo, uma infecção superficial que afeta sobreturo crianças pequenas e atinge principalmente a face e os membros. De início, surge uma pequena mácula (ponto vermelho plano), e, depois, se desenvolve uma vesícula cheia de pus (pústula) sobre uma base eritematosa. Após o rompimento da vesícula, aparece uma crosta. São comuns várias vesículas em diferentes estágios de desenvolvimento, devido ao espalhamento secundário da infecção para pontos adjacentes da pele (Fig. 18-6).O impetigo é geralmente causado pelo *S. aureus*, embora os estreptococos do grupo A, isoladamente ou em associação com *S. aureus*, sejam responsáveis por 20% dos casos.



FIGURA 18-6 Impetigo com pústulas. Observe as vesículas em diferentes estágios de desenvolvimento, incluindo vesículas preenchidas de pus em uma base eritematosa e lesões secas com crostas. (De Emond RT, Rowland HAK, Welsby P: Colour atlas of infectious diseases, ed 3, London, 1995, Wolfe.)

Foliculite é uma infecção piogênica dos folículos pilosos. A base do folículo fica elevada e avermelhada, apresentando uma coleção de pus sob a superfície epidérmica. Se este quadro ocorrer na base da pálpebra, é chamado de terçol. Furúnculos, uma extensão da foliculite, são nódulos elevados, grandes e dolorosos, que possuem uma coleção subjacente de tecido morto e necrótico. Podem drenar espontaneamente ou após incisão cirúrgica.

Carbúnculos ocorrem quando os furúnculos coalescem e se estendem para o tecido subcutâneo mais profundo (Fig. 18-7). Normalmente, diversas fístulas estão presentes. Ao contrário dos pacientes com foliculite e furúnculos, os pacientes com carbúnculo têm calafrios e febre, indicando a disseminação sistêmica de estafilococos para outros tecidos através de bacteremia.



FIGURA 18-7 Carbúnculo por *Staphylococcus aureus*. Este carbúnculo na nádega apresentou período de desenvolvimento de 7 a 10 dias e necessitou de drenagem cirúrgica e de antibioticoterapia. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: *Infectious diseases*, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)

Infecções de feridas por estafilococos também podem ocorrer em pacientes após um procedimento cirúrgico ou trauma, com os micro-organismos que colonizam a pele sendo introduzidos na ferida. Em geral, estafilococos não são capazes de estabelecer infecção em um indivíduo imunocompetente, a menos que um corpo estranho (p.ex., pontos de sutura, estilhaços, sujeira) esteja presente na ferida. As infecções são caracterizadas por edema, eritema, dor e um acúmulo de material purulento. A infecção pode ser facilmente controlada se a ferida for reaberta; o corpo estranho, removido; e o pus, drenado. Se forem observados sinais como febre e mal-estar, ou se a ferida não melhorar em resposta às ações locais de controle, é indicada antibioticoterapia específica para *S. aureus*.

Com a disseminação de **cepas de MRSA na comunidade**, esses micro-organismos são atualmente reconhecidos como a causa mais comum de infecções em tecidos moles em pacientes que buscam atendimento em unidades de emergência nos Estados Unidos. Esse problema é complicado pelo fato de que a maioria desses pacientes é inicialmente tratada com penicilina, cefalosporina ou outro antibiótico igualmente ineficaz.

Bacteremia e Endocardite (Caso Clínico 18-3)

S. aureus é uma causa comum de **bacteremia**. Ainda que as bacteremias causadas pela maioria dos outros micro-organismos se originem de um foco de infecção identificado (p.ex., infecção pulmonar, no trato urinário ou gastrointestinal), o foco primário não é conhecido em cerca de um terço dos pacientes com bacteremia por S. aureus. É provável que a disseminação para o sangue seja a partir de uma infecção de pele aparentemente inócua. Mais de 50% dos casos de bacteremia por S. aureus são adquiridos no hospital, após um procedimento cirúrgico, ou resultam do uso continuado de um cateter intravascular contaminado. As bacteremias por S. aureus, particularmente os episódios prolongados, estão associadas à disseminação para outros pontos do corpo, incluindo o coração.



Caso Clínico 18-3 Endocardite por Staphylococcus aureus

Chen e Li (*N Engl J Med* 355:e27, 2006) descreveram o caso de uma mulher de 21 anos com uma história de uso abusivo de droga intravenosa, HIV e uma contagem de CD4 de 400 células/mm³, que desenvolveu endocardite causada por *S. aureus*. A paciente tinha uma história de 1 semana de febre, dor no peito e hemoptise. O exame físico revelou sopro pansistólico 3/6 e roncos em ambos os campos pulmonares. Diversas lesões cavitárias e bilaterais foram observadas na

radiografia de tórax, e culturas de sangue e de escarro foram positivas para *S. aureus* sensível à meticilina. A paciente foi tratada com oxacilina durante 6 semanas, com resolução da endocardite e dos abscessos pulmonares. Este caso ilustra o início agudo da endocardite por *S. aureus*, os fatores de risco de abuso de drogas intravenosas e a frequência de complicações causadas por êmbolos sépticos.

Endocardite aguda causada por *S. aureus* é uma doença grave, com uma taxa de mortalidade de aproximadamente 50%. Embora os pacientes com endocardite por *S. aureus* possam, inicialmente, apresentar sintomas inespecíficos, semelhantes aos de uma gripe, sua condição se deteriora rapidamente, incluindo distúrbios do débito cardíaco e evidência de embolização séptica. O prognóstico do paciente é ruim, a não ser que intervenções médicas e cirúrgicas sejam instituídas de imediato. Uma exceção é a endocardite por *S. aureus* em usuários de droga parenteral, nos quais a doença normalmente envolve mais frequentemente o lado direito do coração (válvula tricúspide) que o esquerdo. Os sintomas iniciais podem ser brandos, mas febre, calafrios e dor pleurítica causada por embolia pulmonar quase sempre estão presentes. A cura clínica da endocardite é a regra, apesar de ser comum a ocorrência de complicações decorrentes da disseminação secundária da infecção para outros órgãos.

Pneumonia e Empiema

A doença respiratória por *S. aureus* pode se desenvolver após a aspiração de secreções orais ou pela disseminação do microorganismo por via hematogênica, a partir de um ponto distante. **Pneumonia por aspiração** ocorre principalmente em crianças muito jovens, idosos, pacientes com fibrose cística, gripe, doença pulmonar obstrutiva crônica e bronquiectasia. As apresentações clínica e radiográfica da pneumonia não são incomuns. O exame radiográfico revela a presença de infiltrados irregulares com área de consolidação ou abscesso, sendo o último condizente com a capacidade do micro-organismo de secretar enzimas e toxinas citotóxicas e formar abscessos localizados. **Pneumonia por disseminação hematogênica** é comum em pacientes com bacteremia ou endocardite. Cepas comunitárias de MRSA são responsáveis por uma forma grave de **pneumonia necrotizante**, com hemoptise maciça, choque séptico e taxa de mortalidade elevada. Apesar de ser mais comum em crianças e adultos jovens, essa doença não é restrita a esses grupos etários.

Empiema ocorre em 10% dos pacientes com pneumonia, e *S. aureus* é responsável por um terço de todos os casos. O micro-organismo pode se estabelecer em áreas consolidadas, dificultando a drenagem do material purulento em algumas situações.

Osteomielite e Artrite Séptica

Osteomielite causada por *S. aureus* pode resultar da disseminação hematogênica para os ossos, ou pode ser uma infecção secundária decorrente de trauma ou da extensão de uma infecção em uma área adjacente. A disseminação hematogênica em crianças na maioria das vezes resulta de uma infecção estafilocócica cutânea e, usualmente, acomete a metáfise de ossos longos, uma área altamente vascularizada de crescimento ósseo. Essa infecção é caracterizada pelo aparecimento repentino de uma dor localizada no osso acometido e por febre alta. A hemocultura é positiva em cerca de 50% dos casos.

A osteomielite adquirida por via hematogênica que acomete os adultos normalmente ocorre na forma vertebral, e raras vezes como uma infecção nos ossos longos. Dor intensa nas costas com febre é o sintoma inicial. Não são identificadas evidências radiográficas de osteomielite em crianças e adultos até 2 a 3 semanas após o início do aparecimento dos sintomas. Um **abscesso de Brodie** é um foco de sequestro da osteomielite estafilocócica, que surge na metáfise de um osso longo e se manifesta somente em adultos. A osteomielite estafilocócica que ocorre após um trauma ou procedimento cirúrgico geralmente é acompanhada de inflamação e drenagem purulenta a partir de uma ferida ou de uma fístula sobre o osso infectado. Pelo fato de a infecção estafilocócica poder estar restrita à ferida, o isolamento de micro-organismo que provenha desse local não é evidência conclusiva para o acometimento ósseo. Com o emprego de antibioticoterapia apropriada e cirurgia, a taxa de cura para a osteomielite estafilocócica é excelente.

S. aureus é a principal causa de **artrite séptica** em crianças pequenas e em adultos que estejam recebendo injeções intraarticulares, ou que apresentem anormalidades mecânicas nas articulações. O envolvimento secundário de várias
articulações é indicativo de disseminação hematogênica a partir de um foco localizado. S. aureus é substituído por Neisseria
gonorrhoeae nos casos mais comuns de artrite séptica em indivíduos sexualmente ativos. A artrite estafilocócica é
caracterizada por articulação eritematosa dolorida, apresentando material purulento que pode ser obtido por aspiração. A
infecção é usualmente demonstrada nas grandes articulações (p.ex., ombros, joelhos, quadril, cotovelo). O prognóstico em
crianças é excelente, mas em adultos depende da natureza da doença de base e da ocorrência de complicações infecciosas
secundárias.

Staphylococcus epidermidis e Outros Estafilococos Coagulase-negativos

Endocardite (Caso Clínico 18-4)

S. epidermidis, S. lugdunensis e espécies relacionadas de estafilococos coagulase-negativos podem infectar válvulas cardíacas protéticas e, menos comumente, nativas. Acredita-se que a infecção da válvula nativa resulte da inoculação de microorganismos em uma válvula já danificada (p.ex., malformação congênita, dano resultante de doença cardíaca reumática). S. lugdunensis é a espécie de estafilococos mais associada à endocardite em válvula nativa; entretanto, essa doença é mais comumente causada por estreptococos. Por outro lado, os estafilococos são a principal causa de endocardite de válvulas

artificiais. Os micro-organismos são introduzidos no momento da substituição das válvulas, e a infecção tem caracteristicamente um curso muito lento, em que os sinais clínicos e sintomas podem não ser percebidos por até 1 ano após o procedimento. Embora a válvula cardíaca possa estar infectada, a infecção ocorre mais comumente no local onde a válvula foi suturada ao tecido cardíaco. Assim, a infecção com formação de abscesso pode levar à separação da válvula na região da sutura e à insuficiência mecânica cardíaca. O prognóstico para esses pacientes é vigiado, sendo crítica a intervenção médica e cirúrgica imediata.



Caso Clínico 18-4 Endocardite por Staphylococcus lugdunensis

Seenivasan e Yu (Eur J Clin Infect Dis Microbiol 22:489-491, 2003) descreveram um relato típico de endocardite em válvula nativa causada por S. lugdunensis, uma espécie de Staphylococcus coagulase-negativo com uma predileção por causar endocardite. Uma mulher de 36 anos de idade, usuária ativa de cocaína, apresentou um início agudo de fraqueza nas extremidades direitas. Ela relatou febre com calafrios, mal-estar e falta de ar nas 10 semanas precedentes. À admissão no hospital, apresentava taquicardia, hipotensão, uma temperatura de 39°C, um murmúrio pansistólico e hemiparesia do lado direito. A tomografia computadorizada do cérebro revelou um grande infarto no gânglio basal esquerdo. Quatro conjuntos de culturas de sangue foram positivos para S. lugdunensis. A cepa isolada foi resistente à penicilina e sensível a todos os outros antibióticos testados. Como a paciente era alérgica à penicilina, o tratamento foi iniciado com vancomicina e gentamicina. A paciente se apresentou afebril em 3 dias, e as hemoculturas subsequentes foram negativas. A gentamicina foi descontinuada após 1 semana, e a paciente recebeu um total de 6 semanas de terapia com vancomicina. Durante os 7 meses subsequentes, a paciente evoluiu com insuficiência mitral progressiva, que exigiu a substituição da válvula mitral. S. lugdunensis é a mais virulenta entre as espécies de estafilococos coagulase-negativos, causando mais comumente infecções em válvulas cardíacas nativas e com complicações secundárias (p.ex., infarto cerebral causado por êmbolos sépticos) mais frequentemente relatadas. Bacteremia persistente é característica de infecções intravasculares, tais como endocardite.

Infecções de Cateter e Derivações

Mais de 50% de todas as infecções de cateteres e derivações (shunts) são causadas por estafilococos coagulase-negativos. Essas infecções têm se tornado um importante problema médico, porque os cateteres de longa duração e derivações são usados comumente em abordagens médicas de pacientes em estado crítico. Os estafilococos coagulase-negativos em particular apresentam capacidade destacada para causar essas infecções, porque são capazes de produzir uma camada mucoide de polissacarídeo que adere aos cateteres e derivações e protege o micro-organismo da ação de antibióticos e de células inflamatórias. Bacteremia persistente é quase sempre observada em pacientes com infecções de derivações e cateteres, porque os micro-organismos têm acesso contínuo à corrente sanguínea. A glomerulonefrite mediada por complexos imunes ocorre em pacientes com doença de longa duração.

Infecções das Articulações Protéticas

Infecções de articulações artificiais, em particular de quadril, podem ser causadas pelos estafilococos coagulase-negativos. Normalmente, o paciente apresenta apenas dor localizada e comprometimento dinâmico da articulação. Sinais sistêmicos, como febre e leucocitose, não são proeminentes, e as hemoculturas, na maioria das vezes, são negativas. O tratamento consiste na substituição da articulação e terapia antimicrobiana. O risco de reinfecção da nova articulação é consideravelmente aumentado em tais pacientes.

Infecções do Trato Urinário

S. saprophyticus causa principalmente infecção do trato urinário em mulheres jovens e sexualmente ativas e, raras vezes, é responsável por infecção em outros pacientes. Também, não é um colonizador assintomático frequente do trato urinário. Mulheres com essa infecção, normalmente, apresentam quadro de disúria (dor ao urinar), piúria (pus na urina) e numerosos micro-organismos na urina. Tipicamente, os pacientes respondem rapidamente ao tratamento com antibióticos e casos de reinfecção são incomuns.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Os estafilococos são **cocos Gram-positivos** que formam **arranjos em grumos** quando cultivados em meio sólido, mas nos espécimes clínicos comumente aparecem como células isoladas ou em pequenos agrupamentos. O sucesso da detecção do micro-organismo em um espécime clínico depende do tipo de infecção (p.ex., abscesso, bacteremia, impetigo) e da qualidade do material submetido à análise. Se o clínico raspar a base do abscesso com um *swab* ou uma cureta, então uma grande quantidade de micro-organismos deverá ser observada no espécime corado pelo Gram. O pus aspirado ou espécimes coletados com *swabs* de áreas mais superficiais consiste, sobretudo, em material necrótico com relativamente poucos micro-organismos. Assim, esses espécimes não são muito úteis. Um número relativamente reduzido de micro-organismos é encontrado no sangue de pacientes com bacteremia (em média < 1 célula bacteriana por mililitro de sangue),

assim a avaliação de preparações coradas pelo Gram não é útil, devendo ser realizado cultivo do sangue. Estafilococos são identificados na nasofaringe de pacientes com SSSS e no canal vaginal de pacientes com TSS, mas esses micro-organismos não podem ser distinguidos daqueles que normalmente colonizam estes locais. O diagnóstico dessas doenças é feito pela apresentação clínica do paciente, sendo confirmatória a cultura com o isolamento de *S. aureus*. Os estafilococos são associados à intoxicação alimentar, pela apresentação clínica do paciente (p.ex., aparecimento abrupto de vômito e espasmos abdominais) e por um histórico de ingestão de um alimento específico (p.ex., presunto salgado). A coloração de Gram do alimento ou de espécimes de fezes do paciente geralmente não é útil para o diagnóstico.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Testes comerciais para amplificação de ácidos nucleicos estão disponíveis e são empregados para a detecção direta e identificação de *S. aureus* no espécime clínico. Enquanto as versões anteriores desses testes requeriam extração manual do DNA bacteriano e teste de diversas amostras em grandes lotes, o processamento integrado de espécimes (extração, amplificação de genes, detecção do alvo) agora é realizado em plataformas altamente automatizadas com fitas reagentes descartáveis ou cartuchos. Esses testes são úteis para a detecção *S. aureus* meticilina-sensíveis (MSSA) e MRSA em espécimes de feridas e rastreio de amostras nasais para portadores dessas bactérias.

Cultura

Espécimes clínicos devem ser semeados em meios ricos e suplementados, como o ágar-sangue de carneiro. Os estafilococos crescem rapidamente em meios não seletivos incubados em atmosfera aeróbia ou anaeróbia, apresentando colônias grandes e lisas que são visualizadas em 24 horas (Fig. 18-8). Como mencionado, as colônias de *S. aureus* se tornam gradualmente **amarelas**, particularmente quando as culturas são incubadas à temperatura ambiente. Praticamente todas as cepas de *S. aureus* e algumas de estafilococos coagulase-negativos produzem hemólise em ágar-sangue de carneiro. A hemólise é causada por citotoxinas, principalmente a alfa-toxina. Caso o espécime clínico (p.ex., feridas ou espécime respiratório) apresente diferentes micro-organismos, *S. aureus* pode ser isolado seletivamente em vários meios de cultura especiais, como **ágar cromogênico** (onde colônias de *S. aureus* têm uma cor característica) ou **ágar manitol salgado**, que é suplementado com manitol (fermentado pelo *S. aureus*, mas não pela maioria dos demais estafilococos) e cloreto de sódio a 7,5% (que inibe o crescimento da maioria dos outros micro-organismos).



FIGURA 18-8 Staphylococcus aureus em meio de ágar-sangue de carneiro. Observe que as colônias são grandes e β-hemolíticas.

Identificação

Testes bioquímicos relativamente simples (p.ex., reações positivas para **coagulase**, proteína A, nuclease termoestável e fermentação do manitol) podem ser usados para identificar *S. aureus*. Na maioria dos laboratórios clínicos, as colônias

suspeitas de *S. aureus* são identificadas misturando-se uma suspensão bacteriana com uma gota de plasma, para a observação da formação de grumos bacterianos (teste positivo da coagulase). Alternativamente, o teste pode ser feito em tubo, onde uma alíquota do plasma é inoculada com o micro-organismo e o resultado para a formação de coágulo (teste da coagulase em tubo positivo) é visualizado em 4 horas e em 24 horas. A identificação de estafilococos coagulase-negativos é mais complexa, tradicionalmente exigindo a utilização de sistemas de identificação comerciais ou detecção de genes específicos de espécies por técnicas de sequenciação de ácidos nucleicos. Mais recentemente, a espectrometria de massa tem sido utilizada para identificar essas bactérias, bem como muitas outras espécies de organismos, com um elevado nível de precisão e resultados em pouco tempo (quase sempre identificados em minutos). Historicamente, a análise do DNA genômico por eletroforese em gel de campo pulsado, ou técnicas semelhantes, foi o método mais vulgarmente usado para a caracterização de isolados nos níveis de subespécie; no entanto, toda a sequenciação do genoma está rapidamente a tornarse a ferramenta preferencial à subtipagem de organismos para estudos epidemiológicos.

Detecção de Anticorpos

Anticorpos contra os ácidos teicoicos da parede celular estão presentes em muitos pacientes com infecções de longa duração por *S. aureus*. Entretanto, esse teste foi descontinuado, na maioria dos hospitais, por ser menos sensível que a cultura e que testes baseados na detecção de ácidos nucleicos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Logo após a introdução da penicilina, os estafilococos rapidamente desenvolveram resistência e, atualmente, menos de 10% das cepas são suscetíveis a este antimicrobiano. A resistência é mediada por **penicilinase** (β-lactamase específica para penicilinas), que hidrolisam o anel β-lactâmico da penicilina. Devido aos problemas com estafilococos resistentes à penicilina, foram desenvolvidas **penicilinas semissintéticas** resistentes à hidrólise por β-lactamases (p.ex., meticilina, nafcilina, oxacilina, dicloxacilina). Infelizmente, os estafilococos também desenvolveram resistência a esses antimicrobianos. Atualmente, a maioria das cepas de *S. aureus* responsáveis por infecções adquiridas no hospital ou na comunidade é resistente às penicilinas semissintéticas, e as cepas de MRSA são resistentes a todos os antibióticos β-lactâmicos (como penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas). Porém, nem todas as células bacterianas de uma população resistente são capazes de expressar resistência nos testes de suscetibilidade tradicionais (**resistência heterogênea**); assim, o método confirmatório para a identificação de cepas resistentes é a detecção dos genes *mecA* e *mecC*, que codificam para as proteínas ligadoras de penicilina que conferem resistência.

Os pacientes com infecções localizadas de pele e de tecidos moles, geralmente, podem ser tratados com a realização de uma incisão e drenagem dos abscessos. Caso a infecção envolva uma grande área ou sinais sistêmicos estejam presentes, é indicado o emprego de terapia antimicrobiana. Como cepas de MRSA são responsáveis por uma significativa proporção das infecções adquiridas no ambiente hospitalar e na comunidade, a terapia empírica deve incluir antimicrobianos efetivos para cepas de MRSA. Antibioticoterapia administrada por via oral deve incluir trimetroprim-sulfametoxazol, uma tetraciclina de longa duração, tal como doxiciclina ou minociclina, clindamicina ou linezolida. A resistência à clindamicina é comum em algumas comunidades, e o uso de linezolida é limitado pelo custo e toxicidade. Vancomicina é o agente de escolha para a terapia intravenosa, tendo como alternativas aceitáveis daptomicina, tigeciclina ou linezolida.

Os estafilococos têm demonstrado uma notável capacidade para desenvolver resistência à maioria dos antimicrobianos. Até recentemente, o único antibiótico que permanecia uniformemente ativo contra os estafilococos era a vancomicina, a escolha terapêutica para as infecções causadas por estafilococos resistentes à meticilina. Infelizmente, já foram encontradas cepas de *S. aureus* com duas formas de **resistência à vancomicina**. A resistência a baixos níveis é observada em cepas de *S. aureus* com parede celular mais espessa e mais desorganizada. É postulado que a vancomicina fica presa na matriz da parede celular e é incapaz de alcançar a membrana citoplasmática, onde poderia atuar inibindo a síntese da parede celular. Resistência a níveis elevados é mediada pelo gene óperon *vanA*, que foi adquirido de enterococos resistentes à vancomicina. Esses micro-organismos têm uma camada de peptidoglicano modificada, que não liga vancomicina. Atualmente, este tipo de resistência é incomum; entretanto, se essas cepas de estafilococos resistentes vierem a se disseminar, o tratamento com antimicrobianos para esses micro-organismos altamente virulentos será difícil.

Os estafilococos são micro-organismos ubiquitários, presentes na pele e nas membranas mucosas, e sua introdução através de lesões na pele acontece com frequência. No entanto, o número necessário de micro-organismos para estabelecer uma infecção (dose infectante) geralmente é grande, a menos que um corpo estranho (p.ex., sujeira, uma farpa ou espinho, suturas) esteja presente na ferida. A limpeza apropriada do ferimento e a aplicação de um desinfetante adequado (p.ex., sabonete germicida, solução de iodo, hexaclorofeno) evitam a maioria das infecções em indivíduos sadios.

Prevenir a transmissão de estafilococos pessoa a pessoa é mais difícil. Um exemplo disso são as infecções de ferida cirúrgica, que podem ser causadas por relativamente poucos micro-organismos, pois corpos estranhos e tecidos necrosados costumam estar presentes. Embora não seja possível esterilizar o pessoal e o ambiente em uma sala cirúrgica, o risco de contaminação durante uma cirurgia pode ser minimizado por meio de lavagem apropriada das mãos e cobertura das superfícies expostas da pele. A disseminação de micro-organismos resistentes à meticilina também pode ser difícil de controlar, pois portadores assintomáticos na nasofaringe são a fonte mais comum desses micro-organismos.

Referências Bibliográficas

- Bukowski M, Wladyka B, Dubin G. Exfoliative toxins of Staphylococcus aureus. Toxins. 2010;2:1148–1165.
- Fournier B, Philpott D. Recognition of Staphylococcus aureus by the innate immune system. Clin Microbiol Rev. 2005;18:521–540.
- Frank K, del Pozo J, Patel R. From clinical microbiology to infection pathogenesis: how daring to be different works for *Staphylococcus lugdunensis*. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21:111–133.
- Gravet A, Rondeau M, Harf-Monteil C, et al. Predominant *Staphylococcus aureus* isolated from antibiotic-associated diarrhea is clinically relevant and produces enterotoxin A and the bicomponent toxin LukE-LukD. *J Clin Microbiol*. 1999;37:4012–4019.
- Hall PR, Elmore BO, Spang CH, et al. Nox2 modification of LDL is essential for optimal apolipoprotein B-mediated control of *agr* Type III *Staphylococcus aureus* quorum-sensing. *PLoS Pathog*. 2013;9:e1003166.
- Ippolito G, Leone S, Lauria FN, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: the superbug. Int J Infect Dis. 2010;14(Suppl 4):S7-S11.
- James E, Edwards A, Wigneshweraraj S. Transcriptional downregulation of *agr* expression in *Staphylococcus aureus* during growth in human serum can be overcome by constitutively active mutant forms of the sensor kinase AgrC. *FEMS Microbiol Lett.* 2013;349:153–162.
- Krakauer T, Stiles B. The staphylococcal enterotoxin (SE) family. Virulence. 2013;4:759–773.
- Kurlenda J, Grinholc M. Current diagnostic tools for methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. Mol Diagn Ther. 2010;14:73–80.
- Limbago BM, Kallen AJ, Zhu W, et al. Report of the 13th vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from the United States. *J Clin Microbiol*. 2014;52:998–1002.
- Los FC, Randis TM, Aroian RV, et al. Role of pore-forming toxins in bacterial infectious diseases. Microbiol Mol Biol Rev. 2013;2:173–207.
- Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med.* 2006;355:666–674.
- Novick RP, Geisinger E. Quorum sensing in staphylococci. Annu Rev Genet. 2008;42:541–564.
- Otto M. Basis of virulence in community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Annu Rev Microbiol. 2010;64:143–162.
- Pannaraj PS, Hulten KG, Gonzalez BE, et al. Infective pyomyositis and myositis in children in the era of community-acquired, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clin Infect Dis*. 2006;43:953–960.
- Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG, et al. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care associated blood stream infections. *Clin Infect Dis.* 2006;42:647–656.
- Silversides J, Lappin E, Ferguson A. Staphylococcal toxic shock syndrome: mechanisms and management. *Curr Infect Dis Rep.* 2010;12:392–400.
- Singer A, Talan D. Management of skin abscesses in the era of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med*. 2014;370:1039–1047.
- Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. Vancomycin resistance in staphylococci. Clin Microbiol Rev. 2002;15:430–438.
- Stanley J, Amagai M. Pemphigus, bullous impetigo, and the staphylococcal scalded-skin syndrome. N Engl J Med. 2006;355:1800–1810.
- Tang Y, Stratton C. Staphylococcus aureus: an old pathogen with new weapons. Clin Lab Med. 2010;30:179-208.
- Uhlemann AC, Otto M, Lowy FD, et al. Evolution of community- and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus* aureus. Infect Genet Evol. 2014;21:563–574.
- Vandenesch F, Lina G, Henry T. *Staphylococcus aureus* hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: a redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors?. *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2:12.
- Zhu W, Murray PR, Huskins WC, et al. Dissemination of an *Enterococcus* Inc18-Like vanA plasmid associated with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:4314–4320.

Streptococcus e Enterococcus

Um menino com 8 anos compareceu ao seu pediatra com uma febre baixa e uma erupção cutânea eritematosa difusa sobre o peito, que se desenvolveu 2 dias depois de ele se queixar de uma faringite dolorosa. Um exsudato estava presente sobre a área tonsilar da garganta e cobria a sua língua. O diagnóstico clínico de escarlatina foi confirmado pelo teste do antígeno positivo para *Streptococcus* do grupo A por meio de uma amostra da garganta. Os gêneros*Streptococcus* e *Enterococcus* incluem um grande número de espécies capazes de causar um amplo espectro de doenças.

- 1. Que locais do corpo humano são normalmente colonizados por Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae e Streptococcus pneumoniae? Como isso se relaciona com infecções causadas por essas bactérias?
- 2. Os estreptococos viridans (i.e., estreptococos α -hemolíticos e não hemolítico) são subdivididos em cinco grupos. Quais são os grupos e as doenças específicas associadas a cada grupo?
- 3. Os enterococos, como muitas outras bactérias, podem causar infecções do trato urinário, mas principalmente em pacientes hospitalizados. Quais características dessa bactéria são responsáveis pela predileção para a doença nessa população?
- 4. Que propriedades bioquímicas são usadas para separar enterococos dos estafilococos e estreptococos? As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Streptococcus pyogenes (Grupo A)

Palavras-gatilho

Grupo A, faringite, pioderma, febre reumática, glomerulonefrite

Biologia e Virulência

- Cocos Gram-positivos de crescimento rápido, dispostos em cadeias; apresentam carboidrato grupo-específico (antígeno A) e tipo-específico (proteína M) na parede celular
- Virulência determinada pela capacidade de evadir da fagocitose (mediado principalmente pela cápsula, proteínas M e tipo M, C5a peptidase), de aderir e de invadir as células hospedeiras (proteína M, ácido lipoteicoico, proteína F) e de produzir toxinas (exotoxina pirogênica estreptocócica, estreptolisina S, estreptolisina O, estreptoquinase, DNases)

Epidemiologia

- Colonização transitória do trato respiratório superior e da superfície da pele como cepas causadoras de infecções recentes (anterior à produção de anticorpos protetores)
- Faringite e infecções de tecidos moles tipicamente causadas por cepas com proteínas M diferentes
- Disseminação pessoa a pessoa por gotículas respiratórias (faringite), ou através da descontinuidade da pele após contato direto com a pessoa infectada, fômite ou vetor artrópode
- Indivíduos apresentando risco elevado para a aquisição de infecção incluem crianças de 5 a 15 anos (faringite); crianças de 2 a 5 anos com pouca higiene pessoal (piodermia); pacientes com infecção em tecidos moles (síndrome do choque tóxico estreptocócico); pacientes com relato de faringite estreptocócica anterior (febre reumática, glomerulonefrite, ou infecção em tecidos moles (glomerulonefrite)

Doencas

• Responsável por doenças supurativas (faringite, infecções em tecidos moles, choque tóxico estreptocócico) e não supurativas (febre reumática, glomerunonefrite)

Diagnóstico

- A microscopia é útil nas infecções em tecidos moles, mas não nas faringites e complicações não supurativas
- Testes diretos de detecção do antígeno A são úteis para o diagnóstico da faringite estreptocócica
- As cepas são identificadas pelo teste da catalase (negativa), reação de PYR positiva (L-pirrolidonil alrilamidase), suscetibilidade à bacitracina e presença do antígeno grupo-específico (antígeno de grupo A)

• O teste da antiestreptolisina O é útil na confirmação de febre reumática ou glomerulonefrite associadas à faringite; o teste anti-DNase B deve ser realizado para o diagnóstico da glomerulonefrite associada à faringite ou infecções de tecidos moles

Tratamento, Prevenção e Controle

- Penicilina V e amoxicilina são usadas no tratamento da faringite; cefalosporinas orais ou macrolídeos para pacientes alérgicos à penicilina; penicilina intravenosa associada à clindamicina para infecções sistêmicas
- O estado de portador na orofaringe, que pode ocorrer após tratamento, deve ser novamente tratado; porém, o tratamento não é indicado para casos de portador assintomático prolongado devido aos prejuízos que os antimicrobianos causam na microbiota normal protetora
- O início da antibioticoterapia dentro dos 10 dias iniciais da faringite previne a febre reumática
- · Para glomerulonefrite, não é indicado tratamento ou profilaxia com antimicrobianos específicos
- Para pacientes com histórico de febre reumática, a profilaxia antimicrobiana é necessária antes de procedimentos (p.ex., dentários) que possam induzir bacteremias, as quais levem à endocardite

Streptococcus agalactiae (Grupo B)

Palavras-gatilho

Grupo B, doença neonatal, rastreio de mulheres grávidas

Biologia e Virulência

- Cocos Gram-positivos de crescimento rápido, dispostos em cadeias; carboidrato de grupo-específico (antígeno B) e carboidratos capsulares tipo-específicos (Ia, Ib, II-VIII)
- Virulência determinada principalmente pela habilidade em evadir da fagocitose (mediada pela cápsula)

Epidemiologia

- Colonização assintomática do trato respiratório superior e geniturinário
- Doença de início precoce adquirida da mãe por recém-nascidos durante a gestação ou no momento do parto
- Os recém-nascidos apresentam risco mais elevado para aquisição de infecção (1) se ocorrer ruptura prematura de membranas, trabalho de parto demorado, nascimento prematuro ou doença materna disseminada por grupo B; e (2) a mãe não apresentar anticorpos tipo-específicos e tiver níveis baixos de complemento
- Mulheres com colonização genital apresentam risco do desenvolvimento de doença pós-parto
- Homens e mulheres não grávidas com diabetes melito, câncer ou alcoolismo apresentam risco aumentado para a aquisição de doença
- Não existe incidência sazonal

Doenças

• Responsável por doenças neonatais (doença de início precoce e de início tardio com meningite, pneumonia, bacteremia); infecções na mulher grávida (endometrite, infecções de feridas e do trato urinário); e em outros adultos (bacteremia, pneumonia, infecções de articulações e ossos e infecções da pele e de tecidos moles)

Diagnóstico

- Microscopia é útil para meningite (líquido cefalorraquidiano), pneumonia (secreções do trato respiratório inferior) e infecções de feridas (exsudatos)
- Testes com antígenos são menos sensíveis do que a microscopia e não devem ser usados
- A cultura é o teste mais sensível; um caldo seletivo (i.e., LIM) é necessário para melhor detecção do estado de portador vaginal
- Ensaios baseados na reação em cadeia da polimerase para detectar o estado de portador vaginal em mulheres grávidas estão comercialmente disponíveis; atualmente requer o uso de meio enriquecido para sensibilidade ótima
- As cepas são identificadas pela demonstração do antígeno carboidrato-específico de parede celular ou teste positivo para amplificação de ácidos nucleicos

Tratamento, Prevenção e Controle

- Penicilina G é o fármaco de escolha; terapia empírica com antimicrobianos de amplo espectro (cefalosporinas de amplo
 espectro com um aminoglicosídeo) pode ser utilizada até que o patógeno seja identificado; combinação de
 cefalosporina com aminoglicosídeo é utilizada em pacientes com infecções graves; cefalosporina ou vancomicina é
 utilizada para o tratamento de pacientes alérgicos à penicilina
- Em bebês com alto risco de aquisição de doença, penicilina deve ser administrada pelo menos 4 horas antes do parto
- Não existem vacinas disponíveis

Streptococcus pneumoniae

Palavras-gatilho

Diplococos, cápsula, pneumonia, meningite, vacina

Biologia e Virulência

- Cocos Gram-positivos alongados e dispostos aos pares (diplococos), ou em cadeias curtas; parede celular apresenta ácido teicoico rico em fosforilcolina (polissacarídeo C), necessário para a atividade da enzima autolítica, amidase
- Virulência determinada pela capacidade de colonizar a orofaringe (adesinas proteicas de superfície), de disseminar-se por tecidos normalmente estéreis (pneumolisina, protease imunoglobulina [Ig]A), de estimular resposta inflamatória local (ácido teicoico, fragmentos do peptidoglicano, pneumolisina) e de evadir da morte por fagócitos (cápsula polissacarídica)
- Responsável por pneumonia, sinusite, otite média, meningite e bacteremia

Epidemiologia

- A maioria das infecções é causada pela disseminação do micro-organismo a partir da colonização da orofaringe ou nasofaringe para pontos distantes (p.ex., pulmões, seios paranasais, ouvido, sangue, meninges); transmissão pessoa a pessoa através de gotículas infecciosas é rara
- A colonização é mais frequente em crianças pequenas e pessoas em contato com elas
- Indivíduos com infecção respiratória viral antecedente ou outra condição que interfira na eliminação bacteriana do trato respiratório apresentam risco aumentado de doença pulmonar
- Crianças e idosos apresentam risco elevado de aquisição de meningite
- Pessoas com distúrbios hematológicos (p.ex., neoplasia, anemia falciforme) ou asplenia funcional apresentam risco para sepse fulminante
- Embora o micro-organismo seja ubíquo, a doença é mais comum nos meses frios

Diagnóstico

- Microscopia é altamente sensível, da mesma maneira que a cultura, exceto se o paciente estiver em tratamento com antimicrobianos
- Testes com antígenos para o polissacarídeo C de pneumococos são sensíveis para líquido cefalorraquidiano (meningite), mas não para urina (meningite, pneumonia, outras infecções)
- Testes baseados em ácidos nucleicos não são comumente utilizados em diagnóstico
- A cultura requer o uso de meio nutricionalmente enriquecido (p.ex., ágar-sangue de carneiro); o micro-organismo é
 altamente sensível a muitos antimicrobianos, assim a cultura pode se mostrar negativa para pacientes em tratamento,
 mesmo parcial
- As cepas são identificadas pelo teste da catalase (negativo), suscetibilidade à optoquina e solubilidade em bile

Tratamento, Prevenção e Controle

- Penicilina é o fármaco de escolha para as cepas sensíveis, embora resistência seja cada vez mais comum
- Vancomicina combinada com ceftriaxona é utilizada para terapia empírica; monoterapia com cefalosporina, fluoroquinolona ou vancomicina pode ser empregada em pacientes com cepas sensíveis
- A imunização com a vacina conjugada 13-valente é recomendada para todas as crianças menores de 2 anos; a vacina polissacarídica 23-valente é recomendada para adultos com risco para a doença

Enterococcus

Palavras-gatilho

Diplococos, transporte gastrointestinal, resistente a medicamentos, infecções do trato urinário, peritonite

Biologia e Virulência

- Cocos Gram-positivos dispostos em pares e cadeias curtas (morfologicamente semelhantes a Streptococcus pneumoniae)
- Parede celular com antígeno específico de grupo (ácido teicoico glicerol do grupo D)
- Virulência mediada pela capacidade de aderir às superfícies do hospedeiro e formar biofilmes e pela resistência aos antibióticos

Epidemiologia

- Coloniza o trato gastrointestinal de seres humanos e animais; dissemina para outras superfícies mucosas se os antibióticos de largo espectro eliminarem a população bacteriana normal
- Estrutura de parede celular típica de bactérias Gram-positivas, o que permite a sobrevivência em superfícies ambientais durante períodos prolongados
- A maioria das infecções é endógena (da flora bacteriana do paciente); algumas, causadas por disseminação paciente a paciente
- Pacientes com risco aumentado incluem aqueles hospitalizados por períodos prolongados e tratados com antibióticos de largo espectro (em especial as cefalosporinas, às quais os enterococos são naturalmente resistentes)

Doencas

• Doenças incluem infecções do trato urinário, peritonite (geralmente polimicrobiana), infecções de feridas e bacteremia, com ou sem endocardite

Diagnóstico

• Cresce rapidamente em meios não seletivos comuns; diferenciado de organismos relacionados por testes simples (catalase-negativa, 1-pirrolidonilo arilamidase positivas, resistentes à bile e à optoquina)

Tratamento, Prevenção e Controle

- A terapia para infecções graves requer a combinação de um aminoglicosídeo com um antibiótico ativo para a parede celular (penicilina, ampicilina ou vancomicina); novos agentes usados para bactérias resistentes a antibióticos incluem linezolida, daptomicina, tigeciclina e quinupristin/dalfopristin
- A resistência aos antibióticos para cada um desses fármacos está se tornando crescentemente mais comum, e as infecções com muitos isolados (particularmente *Enterococcus faecium*) não são tratáveis com qualquer antibiótico
- Prevenção e controle de infecções exigem a restrição cuidadosa da utilização de antibióticos e a implementação de práticas de controle de infecção apropriadas

Os gêneros *Streptococcus* e *Enterococcus* são formados por um grupo diverso de **cocos Gram-positivos** tipicamente dispostos aos **pares ou em cadeias** (diferentemente do arranjo em grumos formado por *Staphylococcus*) (Tabela 19-1). A maioria das espécies é anaeróbia facultativa, e algumas crescem somente em uma atmosfera enriquecida com dióxido de carbono (**crescimento capnofílico**). Apresentam exigências nutricionais complexas, necessitando do uso de meios enriquecidos com sangue ou soro para o isolamento. Fermentam os carboidratos, o que resulta na produção de ácido lático e, ao contrário das espécies de *Staphylococcus*, os estreptococos e enterococos são **catalase-negativos**. O número de gêneros de catalase-negativa, cocos Gram-positivos que são reconhecidos como agentes patógenos humanos, continua a aumentar; no entanto, *Streptococcus* e *Enterococcus* são os gêneros mais frequentemente isolados e mais comumente responsáveis por doença humana. Os outros gêneros são relativamente pouco comuns e estão listados na Tabela 19-2, mas não serão mais discutidos.



Tabela 19-1

Streptococos e Enterococos Importantes

Micro- organismo	Etimologia	
Streptococcus	streptus, flexível; coccus, grão ou baga (uma baga ou cocos flexíveis; se refere à aparência longa e flexível da cadeia)	
S. agalactiae	agalactia, que quer leite (primeiro isolado [denominado de S. mastitidis] era responsável por mastite bovina)	
S. anginosus	anginosus, pertence à angina	
S. constellatus	constellatus, cravejado de estrelas (a cepa original encravada no ágar apresentou pequenas colônias circundando uma colônia maior; a formação em satélite não ocorre ao redor de colônias cultivadas na superfície do ágar	
S. dysgalactiae	dys, doente, difícil; galactia, pertencente a leite (perda da secreção de leite; cepas associadas a mastite bovina)	
S. gallolyticus	gallatum, galato; lyticus, liberar, soltar (capaz de digerir ou hidrolisar o metil galato)	
S. intermedius	intermedius, intermediário (devido a uma confusão inicial se era uma bactéria aeróbia ou anaeróbia)	
S. mitis	mitis, brando, moderado (acreditava-se incorretamente que causava apenas infecções brandas)	
S. mutans	mutans, mudança (cocos que podem aparecer sob a forma de bastonetes, particularmente em culturas primárias)	
S. pneumoniae	pneumon, os pulmões (causa pneumonia)	
S. pyogenes	pyus, pus; gennaio, gerar ou produzir (produtores de pus; tipicamente associado à formação de pus nas feridas)	
S. salivarius	salivarius, salivar (encontrado na saliva da boca)	
Enterococcus	enteron, intestino; coccus, grão (grão intestinal)	
E. faecalis	faecalis, relativo a fezes	
E. faecium	faecium, "das fezes"	
E. gallinarum	gallinarum, "de galinha" (a fonte original de isolamento foi intestino de aves domésticas)	
E. casseliflavus	casseli, Kassel; flavus, amarelo (amarelo de Kassel)	



Cocos Catalase-negativos, Gram-positivos e suas Doenças

Organismo	Doenças	
Abiotrophia	Bacteremia, endocardite (valva nativa e prostética), abscessos cerebrais nosocomiais e meningite, infecções oculares	
Aerococcus	Bacteremia, endocardite, infecções do trato urinário	
Enterococcus	Bacteremia, endocardite, infecções do trato urinário, peritonite, infecções de feridas	
Granulicatella	Bacteremia, endocardite (valva nativa e prostética), infecções oculares	
Lactococcus	Bacteremia em pacientes imunocomprometidos, endocardite (valva nativa e prostética), infecções do trato urinário, osteomielite	
Leuconostoc	Infecções oportunistas, incluindo bacteremia, infecções de feridas, infecções do sistema nervoso central e peritonite	
Pediococcus	Infecções oportunistas, incluindo bacteremia em pacientes severamente imunocomprometidos	
Streptococcus	Consultar Tabelas 19-3 e 19-4	

A classificação das mais de 100 espécies dentro do gênero *Streptococcus* é complicada, sendo utilizados três diferentes esquemas que se complementam: (1) propriedades sorológicas: separação nos **grupos de Lancefield** (originalmente de A a W); (2) **padrões hemolíticos**: hemólise completa (beta [β]), hemólise incompleta (alfa [α]), e sem hemólise (gama [γ]); e (3) **propriedades bioquímicas (fisiológicas)**. Apesar de representar uma simplificação excessiva, é prático dividir os estreptococos em dois grupos: (1) os estreptococos β -hemolíticos, que são classificados nos grupos de Lancefield, e (2) os estreptococos α -hemolíticos e γ -hemolíticos, que são classificados por testes bioquímicos. O segundo grupo é conhecido coletivamente como **estreptococos** *viridans*, um nome derivado de *viridis* (do latim para "verde"), em referência à pigmentação verde formada pela hemólise parcial do ágar-sangue.

Rebecca Lancefield desenvolveu o esquema de classificação sorológica em 1933. As cepas β-hemolíticas possuem antígenos específicos na parede celular, que na maioria são carboidratos. Esses antígenos podem ser identificados prontamente por ensaios imunológicos e têm sido úteis para a identificação rápida de alguns importantes estreptococos patogênicos. Por exemplo, uma doença causada pelo *Streptococcus pyogenes* (classificado como *Streptococcus* do grupo A no esquema de tipagem de Lancefield) é a faringite estreptocócica. O antígeno de grupo para esse micro-organismo pode ser detectado diretamente a partir de espécimes de orofaringe, coletados com *swab*, por uma variedade de imunoensaios rápidos, sendo um teste diagnóstico comumente utilizado nos laboratórios hospitalares e consultórios médicos. Atualmente, o esquema de tipagem de Lancefield é utilizado somente para umas poucas espécies de estreptococos (p.ex., aquelas classificadas nos grupos A, B, C, F e G; Tabela 19-3).



Tabela 19-3

Classificação dos Estreptococos β-Hemolíticos mais Comuns

Grupo	Espécies Representativas	Doenças	
A S. pyogenes Faringite, infecções da pele e de tecidos moles, bacteremia, febre reumát Grupo S. anginosus		Faringite, infecções da pele e de tecidos moles, bacteremia, febre reumática, glomerulonefrite aguda	
	Grupo S. anginosus	Abscessos	
В	S. agalactiae	Doença neonatal, endometrite, infecções em feridas, infecções do trato urinário, bacteremia, pneumonia, infecções da pele e de tecidos moles	
С	S. dysgalactiae	Faringite, glomerulonefrite aguda	
F, G	Grupo S. anginosus S. dysgalactiae Abscessos Faringite, glomerulonefrite aguda		

Os enterococos ("cocos entéricos") foram anteriormente classificados como **estreptococos do grupo D**, porque compartilham o **antígeno da parede celular do grupo D**, um ácido teicoico glicerol, com outros estreptococos. Em 1984, os enterococos foram reclassificados em um novo gênero *Enterococcus*, e existem atualmente 54 espécies nesse gênero; no entanto, relativamente poucas espécies são importantes patógenos humanos. As espécies mais comumente isoladas e clinicamente importantes são o *Enterococcus faecalis* e o *Enterococcus faecium*. O *Enterococcus gallinarum* e o *Enterococcus casseliflavus* também são colonizadores comuns do trato intestinal humano e são importantes porque essas espécies são inerentemente resistentes à vancomicina.

Os estreptococos *viridans* são subdivididos em cinco grupos clinicamente distintos (Tabela 19-4). Algumas espécies de estreptococos *viridans* podem ser β -hemolíticas, assim como α -hemolíticas e não hemolíticas, o que, infelizmente, resultou

na classificação desses micro-organismos por ambos os esquemas, tanto pela grupagem de Lancefield, quanto como estreptococos *viridans*. Embora a classificação dos estreptococos seja um tanto confusa, as doenças clínicas são bem definidas para cada espécie, e isso será a ênfase deste capítulo.



Tabela 19-4

Classificação dos Streptococcus do Grupo Viridans

Grupo	Espécies Representativas	Doenças
Anginosus	S. anginosus, S. constellatus, S. intermedius	Abscessos cerebrais, de orofaringe, ou da cavidade peritoneal
Mitis	S. mitis, S. pneumoniae, S. oralis	Endocardite subaguda; sepse em pacientes neutropênicos; pneumonia; meningite
Mutans	S. mutans, S. sobrinus	Cárie dental; bacteremia
Salivarius	S. salivarius	Bacteremia; endocardite
Bovis	S. gallolyticus subsp. gallolyticus; subsp. pasteurianus	Bacteremia associada a câncer gastrointestinal (subsp. gallolyticus); meningite (subsp. pasteurianus)
Não grupáveis	S. suis	Meningite; bacteremia; síndrome do choque tóxico estreptocócico

Streptococcus pyogenes

S. pyogenes causa uma variedade de doenças supurativas e não supurativas (Quadro 19-1). Embora esse micro-organismo seja a causa mais comum de faringite bacteriana, a notoriedade de S. pyogenes, popularmente chamado de "bactéria carnívora", é resultado de sua associação como a causa de mionecroses fatais.



Quadro 19-1 Doenças Estreptocócicas e Enterocócicas: Resumos Clínicos

Streptococcus pyogenes (Grupo A)

Infecções Supurativas

Faringite: faringe avermelhada, geralmente com presença de exsudato; pode ser proeminente uma linfadenopatia cervical

Escarlatina: erupção eritematosa difusa, iniciando no tórax e se espalhando para as extremidades; complicação da faringite estreptocócica

Piodermia: infecção localizada da pele com vesículas que progridem para pústulas; sem evidências de infecção sistêmica **Erisipela:** infecção localizada da pele com dor, inflamação, hipertrofia dos linfonodos e sintomas sistêmicos **Celulite:** infecção da pele que envolve o tecido subcutâneo

Fascite necrosante: infecção profunda da pele que envolve destruição do músculo e das camadas de gordura Síndrome do choque tóxico estreptocócico: infecção sistêmica que atinge vários órgãos, semelhante à síndrome do choque tóxico estafilocócico; no entanto, a maioria dos pacientes apresenta evidências de bacteremia e fascite

Outras infecções supurativas: é reconhecida uma variedade de infecções, incluindo sepse puerperal, linfangite e pneumonia

Doenças Não Supurativas

Febre reumática: caracterizada por alterações inflamatórias do coração (pancardite), articulações (artralgias e artrite), vasos sanguíneos e tecidos subcutâneos

Glomerulonefrite aguda: inflamação aguda do glomérulo renal com edema, hipertensão e proteinúria

Streptococcus agalactiae (Grupo B)

Doença neonatal de início precoce: ocorre dentro de 7 dias após o nascimento, recém-nascidos infectados desenvolvem sinais e sintomas de pneumonia, meningite e sepse

Doença neonatal de início tardio: ocorre em bebês com mais de 1 semana, que desenvolvem sinais e sintomas de bacteremia com meningite

Infecções na mulher grávida: apresentam-se mais frequentemente como endometrite pós-parto, infecções de feridas e infecções do trato urinário; bacteremia e complicações disseminadas podem ocorrer

Infecções em outros pacientes adultos: as doenças mais comuns incluem bacteremia, pneumonia, infecções em ossos e articulações e infecções da pele e de tecidos moles

Outros Estreptococos β-Hemolíticos

Formação de abscessos em tecidos profundos: associada ao grupo S. anginosus

Faringite: associada a *S. dysgalactiae*; doença semelhante à causada por *S. pyogenes*; pode ser complicada por glomerulonefrite aguda

Estreptococos *Viridans*

Formação de abscessos em tecidos profundos: associada ao grupo S. anginosus

Sepse em pacientes neutropênicos: associada ao grupo S. mitis

Endocardite subaguda: associada aos grupos *S. mitis* e *S. salivarius*

Cárie dentária: associada ao grupo S. mutans

Malignidade do trato gastrointestinal: associada ao grupo S. bovis (S. gallolyticus subsp. gallolyticus)

Meningite: associada a S. gallolyticus subsp. pasteurianus, S. suis e grupo S. mitis

Streptococcus pneumoniae

Pneumonia: início abrupto com calafrios intensos e febre persistente; tosse produtiva com escarro sanguinolento; consolidação lobar

Meningite: infecção grave envolvendo as meninges, com dor de cabeça, febre e sepse; elevada taxa de mortalidade e sequelas neurológicas graves nos sobreviventes

Bacteremia: mais comum em pacientes com meningite que com pneumonia, otite média ou sinusite; sepse preponderante em pacientes asplênicos

Enterococcus faecalis e Enterococcus faecium

Infecção do trato urinário: disúria e piúria são mais frequentes em pacientes hospitalizados com cateter urinário e usando cefalosporinas de amplo espectro

Peritonite: distensão e dor abdominal após trauma ou cirurgia; os pacientes tipicamente apresentam quadro agudo, febre e hemoculturas positivas; caracteristicamente, infecções polimicrobianas

Bacteremia: associada tanto a infecções localizadas como à endocardite

Endocardite: infecção do endotélio ou das válvulas cardíacas; associada à bacteremia persistente; pode ser aguda ou crônica

Fisiologia e Estrutura

Isolados de estreptococos são cocos esféricos, com 1 a 2 μm de diâmetro, dispostos em cadeias curtas nos espécimes clínicos e em cadeias mais longas quando cultivados em meio líquido (Fig. 19-1). O crescimento é ótimo em ágar enriquecido com sangue, mas é inibido se o meio apresentar altas concentrações de glicose. Após 24 horas de incubação, são observadas colônias brancas de 1 a 2 mm com grandes zonas de β-hemólise (Fig. 19-2).

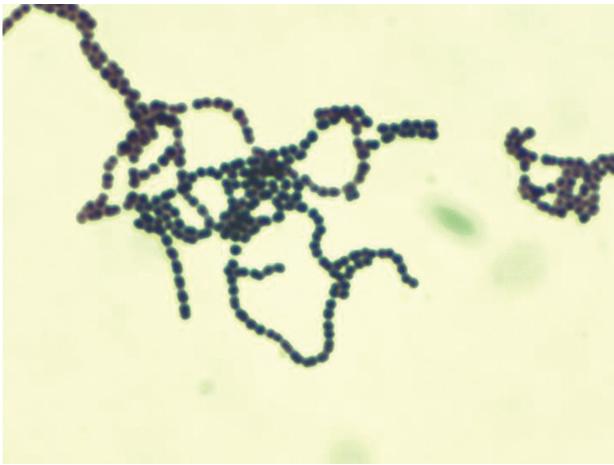


FIGURA 19-1 Coloração de Gram de Streptococcus pyogenes.

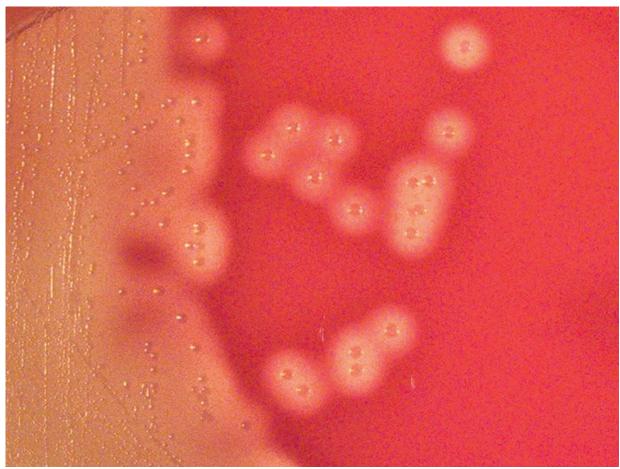


FIGURA 19-2 Streptococcus pyogenes (grupo A) cresce tipicamente como colônias pequenas com uma grande área de hemólise.

A estrutura antigênica de S. pyogenes tem sido extensivamente estudada. O esqueleto estrutural básico da parede celular é a camada de peptidoglicano, que tem composição semelhante à encontrada em outras bactérias Gram-positivas. Na parede celular, estão os antígenos grupo-específicos e tipo-específicos. O carboidrato grupo-específico, que constitui aproximadamente 10% do peso seco da célula (antígeno de grupo A de Lancefield), é um dímero de N-acetilglicosamina e ramnose. Esse antígeno é usado para classificar os estreptococos do grupo A, distinguindo-os de outros grupos de estreptococos. A proteína M é o principal antígeno tipo-específico associado a cepas virulentas e consiste em duas cadeias polipeptídicas complexadas em uma alfa-hélice. A proteína está ancorada na membrana citoplasmática e se estende através da parede celular, projetando-se acima da superfície celular. O terminal carboxílico, que está ancorado na membrana citoplasmática, e a porção da molécula que se encontra inserida na parede celular são altamente conservados (considerando-se a sequência de aminoácidos) em todas as cepas de estreptococos do grupo A. O terminal amino, que se estende acima da superfície celular, é responsável pelas diferenças antigênicas observadas nos sorotipos específicos de proteínas M. As proteínas M são subdivididas em moléculas de classe I e de classe II. As proteínas M de classe I compartilham antígenos expostos, o que não ocorre com as proteínas M de classe II. Embora cepas com ambas as classes de proteína M possam estar associadas a infecções supurativas e glomerulonefrite, somente as que apresentam proteína M de classe I (que compartilham antígenos expostos) causam febre reumática. A classificação epidemiológica de S. pyogenes é baseada na análise da sequência do gene emm, que codifica para as proteínas M.

Outros componentes importantes na parede celular de *S. pyogenes* incluem **proteínas de superfície semelhantes à proteína M, ácido lipoteicoico** e **proteína F**. Um complexo de mais de 20 genes que compreendem a superfamília de genes *emm* codifica as proteínas tipo M, bem como as proteínas M e proteínas que ligam imunoglobulinas. O ácido lipoteicoico e a proteína F facilitam a ligação com as células hospedeiras por se complexar com a fibronectina presente na superfície dessas células.

Algumas cepas de *S. pyogenes* apresentam uma **cápsula** externa de ácido hialurônico que é antigenicamente indistinguível do ácido hialurônico do tecido conjuntivo dos mamíferos. As cepas encapsuladas têm maior probabilidade de causar infecções sistêmicas graves, pois a cápsula protege a bactéria da eliminação por fagocitose.

Patogênese e Imunidade

A virulência dos estreptococos do grupo A é determinada pela capacidade do micro-organismo de evitar a opsonização e a fagocitose, de aderir e invadir as células hospedeiras e de produzir uma variedade de toxinas e enzimas.

Interações Iniciais Parasita-Hospedeiro

S. pyogenes tem diferentes mecanismos para evitar a opsonização e a fagocitose. A cápsula de ácido hialurônico é um imunógeno fraco e dificulta a fagocitose. As proteínas M também interferem na fagocitose por bloquear a ligação do componente C3b do sistema complemento, um importante mediador da fagocitose. O componente C3b também pode ser degradado pelo fator H, que se liga à superfície celular na região da proteína M. As denominadas proteínas tipo M também apresentam similaridades estruturais à proteína M e estão sob os mesmos controles regulatórios. Essas proteínas interferem na fagocitose pela ligação ao fragmento Fc dos anticorpos ou à fibronectina, que bloqueia a ativação do sistema complemento pela via alternativa e reduz a quantidade de C3b ligado. Por último, S. pyogenes tem C5a peptidase em sua superfície. essa serina protease inativa C5a, um quimioatrativo de neutrófilos e de fagócitos mononucleares, e protege o micro-organismo da eliminação precoce a partir de tecidos infectados.

Demonstrou-se que muitos antígenos bacterianos diferentes são capazes de mediar **adesão às células do hospedeiro**, sendo os mais importantes o ácido lipoteicoico, proteínas M e proteína F. A adesão inicial é uma interação fraca entre o **ácido lipoteicoico** e pontos de ligação de ácidos graxos na fibronectina e em células epiteliais. A adesão subsequente envolve a **proteína M**, **proteína F** e outras adesinas que interagem com receptores específicos nas células do hospedeiro.

S. pyogenes pode **invadir as células epiteliais**, um processo que é mediado pela **proteína M**, **proteína F** e outros antígenos bacterianos. Acredita-se que essa internalização seja importante para manutenção de infecções persistentes (p.ex., faringite estreptocócica recorrente) e invasão de tecidos profundos.

Toxinas e Enzimas

As exotoxinas pirogênicas estreptocócicas (Spe), originalmente chamadas de toxinas eritrogênicas, são produzidas por cepas lisogênicas de estreptococos e são similares à toxina produzida por Corynebacterium diphteriae. Quatro toxinas termolábeis imunologicamente distintas (SpeA, SpeB, SpeC e SpeD) têm sido descritas em S. pyogenes e em raras cepas de estreptococos dos grupos C e G. As toxinas agem como superantígenos, interagindo tanto com macrófagos quanto com células T auxiliares, aumentando a liberação de citocinas pró-inflamatórias. Acredita-se que essa família de exotoxinas seja responsável por muitas das manifestações clínicas das doenças estreptocócicas graves, incluindo a fascite necrosante e a síndrome do choque tóxico estreptocócico, bem como a erupção cutânea observada em pacientes com escarlatina. Ainda não está claro se a erupção cutânea resulta de um efeito direto da toxina no leito capilar ou, mais provável, se é secundária a uma reação de hipersensibilidade.

Estreptolisina S é uma hemolisina ligada à célula, estável ao oxigênio e não imunogênica, que pode lisar eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Também pode estimular a liberação do conteúdo lisossômico após fagocitose pela célula, com subsequente morte do fagócito. A estreptolisina S é produzida na presença de soro (o S indica estável ao soro, do inglês *stable*) e é responsável pela β-hemólise característica observada no meio de ágar-sangue.

Estreptolisina O é uma hemolisina lábil ao oxigênio e capaz de lisar eritrócitos, leucócitos, plaquetas e células em cultura. Essa hemolisina é antigenicamente relacionada com as toxinas lábeis ao oxigênio produzidas por *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium tetanii*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* e *Listeria monocytogenes*. Anticorpos são prontamente formados contra a estreptolisina O (anticorpos antiestreptolisina O [ASO]), uma característica que a diferencia da estreptolisina S e é útil para documentar uma infecção recente por estreptococos do grupo A (teste ASO). No entanto, pelo fato de a estreptolisina O ser irreversivelmente inibida pelo colesterol dos lipídios da pele, pacientes com infecções cutâneas não desenvolvem anticorpos ASO.

Pelo menos duas formas de **estreptoquinase (A e B)** têm sido descritas. Essas enzimas medeiam a clivagem do plasminogênio, liberando a protease plasmina que, por sua vez, cliva a fibrina e o fibrinogênio. Assim, essas enzimas podem lisar coágulos sanguíneos e depósitos de fibrina e facilitar a rápida disseminação de *S. pyogenes* nos tecidos infectados. Anticorpos direcionados contra essas enzimas **(anticorpos antiestreptoquinase)** são marcadores úteis de infecção.

Quatro deoxirribonucleases imunologicamente distintas (**DNases A a D**) foram identificadas. Essas enzimas não são citolíticas, mas podem despolimerizar o ácido deoxirribonucleico (DNA) livre presente no pus. Esse processo reduz a viscosidade do material do abscesso e facilita a disseminação dos micro-organismos. Os anticorpos desenvolvidos contra DNase B são um importante marcador das infecções por *S. pyogenes* (**teste anti-DNase B**), particularmente para pacientes com infecções cutâneas, porque esses falham em expressar anticorpos contra estreptolisina O (veja o texto anterior).

Epidemiologia

O Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estimou que pelo menos 10 milhões de casos de doença não invasiva ocorrem anualmente, sendo a faringite e a piodermia as infecções mais comuns. Os estreptococos do grupo A podem colonizar a orofaringe de crianças sadias e de adultos jovens, na ausência de doença clínica. Entretanto, o isolamento de *S. pyogenes* de um paciente com faringite é considerado significativo. A colonização assintomática com *S. pyogenes* é transitória, regulada pela capacidade do indivíduo em desenvolver imunidade específica para a proteína M da cepa colonizadora e pela presença de micro-organismos competidores na orofaringe. Pacientes não tratados produzem anticorpos específicos contra a proteína M bacteriana, que podem resultar em uma imunidade de longa duração; no entanto, essa resposta de anticorpos é diminuída nos pacientes tratados.

Em geral, a doença por *S. pyogenes* é causada por cepas recém-adquiridas, que podem estabelecer uma infecção de faringe ou de pele antes que anticorpos específicos sejam produzidos ou que micro-organismos competidores sejam capazes de se proliferar. A faringite causada por *S. pyogenes* é primariamente uma doença que acomete crianças entre 5 e 15 anos, mas crianças em outras faixas etárias e adultos também são suscetíveis. O patógeno é disseminado de pessoa a pessoa através de perdigotos. Aglomerações, tais como em salas de aula e creches, aumentam a oportunidade de disseminação do micro-organismo, particularmente durante os meses de inverno. As infecções de tecidos moles (p.ex., piodermia, erisipela, celulite, fascite) são tipicamente precedidas da colonização inicial da pele com estreptococos do grupo A, sendo os micro-organismos posteriormente introduzidos em tecidos superficiais ou profundos através de uma descontinuidade da pele.

Doenças Clínicas

Doenças Estreptocócicas Supurativas

Faringite

Faringite geralmente se desenvolve 2 a 4 dias após a exposição ao patógeno, com um início abrupto de dor de garganta, febre, mal-estar e cefaleia. A faringe posterior pode se apresentar eritematosa, com um exsudato, e com proeminente linfadenopatia cervical. Apesar desses sinais e sintomas clínicos, é difícil diferenciar a faringite estreptocócica de uma viral. Um diagnóstico preciso somente pode ser realizado por testes laboratoriais específicos.

Escarlatina é uma complicação da faringite estreptocócica que ocorre quando a cepa infectante é lisogenizada por um bacteriófago temperado que medeia a produção de uma exotoxina pirogênica. Em 1 a 2 dias após os sintomas clínicos iniciais de faringite se desenvolverem, surge uma erupção eritematosa difusa na região superior do tórax, que se espalha para as extremidades. A área ao redor da boca é geralmente poupada (palidez perioral), bem como a palma das mãos e a sola dos pés. Inicialmente, uma camada branco-amarelada recobre a língua, que mais tarde se desprende, revelando abaixo uma superfície vermelha e inflamada ("língua de morango"). A erupção, que clareia quando pressionada, é mais bem visualizada no abdome e nas dobras da pele (linhas de Pastia). A erupção desaparece após 5 a 7 dias e é seguida de descamação da camada superior da pele. As complicações supurativas da faringite estreptocócica (p.ex., abscessos peritonsilares e retrofaríngeos) se tornaram raras desde o advento da antibioticoterapia.

Piodermia

Piodermia (impetigo) é uma infecção de pele ("derme") confinada, purulenta ("pio") que afeta principalmente áreas expostas (p.ex., face, braços, pernas). A infecção se inicia quando a pele é colonizada com *S. pyogenes*, após o contato direto com pessoas infectadas ou fômites contaminados. O micro-organismo é introduzido no tecido subcutâneo através de uma descontinuidade da pele (p.ex., arranhão, picada de inseto). As vesículas se desenvolvem, progridem para pústulas (vesículas cheias de pus) e então se rompem e formam uma crosta na superfície. Os linfonodos regionais podem estar

aumentados, porém não são comuns sinais sistêmicos de infecção (p.ex., febre, sepse e envolvimento de outros órgãos). A disseminação secundária dérmica da infecção causada por arranhadura é comum.

Piodermia é observada principalmente durante os meses quentes e úmidos e em crianças pequenas com pouca higiene pessoal. Embora *S. pyogenes* seja responsável pela maioria das infecções estreptocócicas de pele, os estreptococos dos grupos C e G também têm sido implicados. *Staphylococcus aureus* também está na maioria das vezes presente nas lesões. As cepas de estreptococos que causam infecções de pele diferem daquelas que causam faringite, embora os que causam piodermia possam colonizar a faringe e estabelecer um estado de portador persistente.

Erisipela

Erisipela (erythros, "vermelho"; pella, "pele") é uma infecção aguda da pele. Os pacientes apresentam dor localizada, inflamação (eritema, calor), aumento dos linfonodos e sinais sistêmicos (calafrios, febre, leucocitose). A área da pele envolvida fica tipicamente elevada, diferenciando-se das regiões não afetadas (Fig. 19-3). A erisipela ocorre mais comumente em crianças pequenas e idosos, historicamente na face, mas hoje em dia é mais frequente nas pernas, e em geral é precedida de infecções do trato respiratório ou da pele com *S. pyogenes* (menos usual com estreptococos dos grupos C e G).



FIGURA 19-3 Estágio agudo de erisipela da perna. Observe o eritema na área acometida e a formação de bolhas. (De Emond RT, Rowland HAK, Welsby P: Colour atlas of infectious diseases, ed 3, London, 1995, Wolfe.)

Ao contrário da erisipela, a **celulite** envolve tipicamente tanto a pele quanto os tecidos subcutâneos mais profundos, e a distinção entre a região infectada da não infectada não é clara. Como na erisipela, são observados sinais de inflamação local e sistêmica. É necessária a identificação precisa do micro-organismo envolvido, porque diversas bactérias diferentes podem causar celulite.

Fascite Necrosante

Fascite necrosante (também chamada de *gangrena estreptocócica*) é uma infecção que ocorre no tecido subcutâneo profundo, dissemina-se ao longo dos planos fasciais e é caracterizada por uma destruição extensiva do músculo e do tecido adiposo (Fig. 19-4). O micro-organismo (referido pelos meios de comunicação como "bactéria carnívora") é inserido no tecido através de uma descontinuidade na pele (p.ex., cortes pequenos ou trauma, infecção viral vesicular, queimadura, cirurgia). Inicialmente, há uma evidência de celulite, que em seguida forma uma bolha, gangrena (necrose tecidual associada à obstrução do fluxo sanguíneo) e desenvolvimento dos sintomas sistêmicos. As características dessa doença são toxicidade, falência de múltiplos órgãos e morte; assim, é necessária a pronta intervenção médica para salvar o paciente. Diferentemente da celulite, que pode ser tratada com terapia antimicrobiana, na fascite é necessário conjugar um tratamento agressivo, que inclui desbridamento cirúrgico do tecido infectado.



FIGURA 19-4 Fascite necrosante causada por *Streptococcus pyogenes*. O paciente apresentou uma história de 3 dias com mal-estar, mialgia difusa e febre baixa. Em três horas, a dor se tornou insuportável e localizada na panturrilha. **A,** Observe as duas bolhas pequenas e púrpuras sobre a panturrilha (*setas*). **B,** Fascite necrosante extensa foi identificada em cirurgia. Apesar de agressivas medidas cirúrgicas e clínicas, o paciente foi a óbito. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: *Infectious diseases*, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)

Síndrome do Choque Tóxico Estreptocócico (Caso Clínico 19-1)

Embora a incidência de doenças graves por *S. pyogenes* tenha diminuído de maneira constante após o advento dos antibióticos, essa tendência mudou dramaticamente no final da década de 1980, quando infecções caracterizadas por toxicidade multissistêmica passaram a ser relatadas. Os pacientes com essa síndrome apresentam inicialmente uma inflamação de tecido mole no ponto da infecção, dor e sintomas inespecíficos como febre, calafrios, mal-estar, náuseas, vômitos e diarreia. A dor se intensifica à medida que a doença progride para o choque e a falência de órgãos (p.ex., rins, pulmões, fígado, coração) — características semelhantes àquelas da síndrome do choque tóxico estafilocócico. Entretanto, de maneira diferente da doença estafilocócica, a maioria dos pacientes com a doença estreptocócica apresenta bacteremia, e muitos têm fascite necrosante.



Caso Clínico 19-1 Síndrome do Choque Tóxico Estreptocócico

A síndrome do choque tóxico estreptocócico é uma infecção mortal assustadora. Esse caso é representado por um paciente relatado por Cone et al., em 1987 (*N Engl J Med* 317:146-149, 1987). Paciente do sexo masculino, 46 anos, foi arranhado em seu antebraço por um cachorro pastor-alemão e, no dia seguinte, durante o trabalho, a ferida reabriu. Na noite seguinte, ele apresentou febre baixa, calafrios, dor nas costas e mialgia. Quando buscou o departamento de emergência local, foram observados um pequeno eritema e um fino exsudato seroso no local do ferimento. Foram coletadas culturas da secreção da ferida e de sangue e foi iniciada antibioticoterapia intravenosa. Depois de 10 horas, o paciente começou a apresentar-se desorientado e hipotensivo. Foi, então, transferido para a unidade de terapia intensiva. Como o eritema sobre o ferimento havia-se expandido, com a formação de muitas bolhas na superfície, o paciente foi encaminhado para cirurgia, onde foi drenado um fluido amarelado do tecido muscular. Nas culturas da secreção do ponto cirúrgico, bem como do ferimento original, cresceu *Streptococcus pyogenes*. Mesmo após desbridamento cirúrgico, a condição clínica do paciente continuou a declinar com o desenvolvimento de angústia respiratória e falência hepática, renal e cardíaca. O paciente apresentou hipotensão persistente e foi a óbito 3 dias após a admissão no hospital. A progressão fulminante dessa doença e a falência em múltiplos órgãos ressaltam a necessidade de uma intervenção médica agressiva.

Apesar de indivíduos de todos os grupos etários serem suscetíveis à **síndrome do choque tóxico estreptocócico**, o risco de aquisição da doença é aumentado para pacientes com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), câncer, diabetes melito, doença cardíaca ou pulmonar, infecção pelo vírus da varicela-zóster, bem como para usuários de drogas intravenosas e que abusam de álcool. As cepas de *S. pyogenes* responsáveis por essa síndrome diferem das que causam faringite, na medida em que a maioria pertence aos sorotipos M1 ou M3, e muitas apresentam uma proeminente cápsula do mucopolissacarídeo ácido hialurônico (cepas mucoides). A produção das exotoxinas pirogênicas, particularmente SpeA e SpeC, também é uma característica de destaque desses micro-organismos.

Outras Doenças Supurativas

S. pyogenes tem sido associado a uma variedade de outras infecções supurativas, incluindo sepse puerperal, linfangite e pneumonia. Embora essas infecções ainda sejam observadas, tornaram-se menos comuns após a implementação da antibioticoterapia.

Bacteremia

S. pyogenes é uma das espécies mais comuns de estreptococos β-hemolíticos isoladas de hemoculturas. Os pacientes com infecções localizadas (p.ex., faringite, piodermia, erisipela) raramente apresentam bacteremia, porém as hemoculturas da maioria dos pacientes com fascite necrosante ou síndrome do choque tóxico são positivas. A taxa de mortalidade nessa população de paciente é próxima de 40% em países com uma infraestrutura médica sofisticada e é muito maior em países com recursos limitados.

Doenças Estreptocócicas não Supurativas

Febre Reumática

Febre reumática é uma complicação não supurativa da faringite por *S. pyogenes*. É caracterizada por alterações inflamatórias envolvendo coração, articulações, vasos sanguíneos e tecidos subcutâneos. O envolvimento do coração se manifesta como uma pancardite (endocardite, pericardite, miocardite) e está frequentemente associado a nódulos subcutâneos. Pode ocorrer um dano crônico e progressivo das válvulas cardíacas. As manifestações em articulações podem variar de artralgias a artrite clara, com envolvimento de múltiplas articulações em um padrão migratório (i.e., o comprometimento muda de uma articulação para outra).

A incidência da febre reumática nos Estados Unidos diminuiu de um patamar de mais de 10.000 casos por ano, relatados em 1961, para 112 casos em 1994 (o último ano de notificação compulsória). Em contraste, em países em desenvolvimento a doença é muito mais comum, com uma estimativa de 100 casos por 100.000 crianças por ano. Tipos específicos de proteína M de classe I (p.ex., tipos 1, 3, 5, 6 e 18), com local antigênico exposto, são responsáveis pela febre reumática. Além disso, a febre reumática está associada à faringite estreptocócica, mas não a infecções cutâneas estreptocócicas. Como esperado, as características epidemiológicas da doença são similares àquelas da faringite estreptocócica. A doença é mais comum em crianças em idade escolar mais jovens, sem predileção por sexo, ocorrendo, principalmente, durante os meses de outono ou inverno. A doença é mais comum em pacientes com faringite estreptocócica grave; entretanto, até um terço dos pacientes pode apresentar infecções brandas ou assintomáticas. Cepas reumatogênicas induzem uma reposta expressiva de anticorpos em todos os pacientes com faringite. Caso não seja administrada profilaxia antimicrobiana, a febre reumática pode recorrer em infecção estreptocócica subsequente. O risco para recorrência diminui com o tempo.

Como nenhum teste específico pode identificar pacientes com febre reumática, o diagnóstico é feito com base nos achados clínicos e em evidências documentadas de uma infecção recente por *S. pyogenes*, tais como (1) cultura de orofaringe positiva ou teste específico baseado em ácidos nucleicos; (2) detecção do antígeno de grupo A em *swab* de orofaringe; ou (3) uma elevação dos anticorpos ASO, anti-DNase B, ou anti-hialuronidase. Títulos de anticorpos elevados ou em ascensão seria uma forte evidência de febre reumática.

Glomerulonefrite Aguda

A segunda complicação não supurativa de doença estreptocócica é a **glomerulonefrite**, que é caracterizada por inflamação aguda do glomérulo renal com edema, hipertensão, hematúria e proteinúria. Cepas nefrogênicas específicas de estreptococos do grupo A estão associadas a essa doença. Diferentemente da febre reumática, a glomerulonefrite aguda é uma sequela tanto das infecções estreptocócicas de faringe, quanto da piodermia; entretanto, os sorotipos M nefrogênicos são diferentes nessas infecções primárias. As características epidemiológicas da doença são semelhantes àquelas da infecção estreptocócica inicial. O diagnóstico é feito com base na apresentação clínica e no achado de evidências de infecção recente por *S. pyogenes*. Pacientes jovens geralmente têm uma recuperação sem intercorrências, mas ainda não está claro o prognóstico de longo prazo para os adultos. Perda progressiva e irreversível da função renal tem sido observada em adultos.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

A coloração de Gram do tecido afetado pode ser usada para fazer um diagnóstico rápido e preliminar das infecções de tecidos moles ou piodermia por *S. pyogenes*. Já que os estreptococos não são observados em preparações coradas pelo Gram de pele não infectada, a detecção de cocos Gram-positivos aos pares e em cadeias, em associação com leucócitos, é importante. Ao contrário, muitas espécies de estreptococos fazem parte da microbiota normal da orofaringe; assim, a observação de estreptococos em espécimes respiratórios de um paciente com faringite não tem significado para o diagnóstico.

Detecção de Antígenos

Uma variedade de testes imunológicos usando anticorpos que reagem com o carboidrato grupo-específico da parede celular bacteriana pode ser usada para detectar os estreptococos do grupo A diretamente de *swabs* da orofaringe. Esses testes são rápidos, baratos e específicos. Todos os resultados negativos devem ser confirmados por um teste alternativo. A detecção de antígenos para as doenças cutâneas ou não supurativas não é usada.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Ensaios comerciais usando sondas de ácidos nucleicos e ensaios de amplificação de ácidos nucleicos estão disponíveis para a detecção de *S. pyogenes* em espécimes de orofaringe. Os ensaios com sondas são menos sensíveis que a cultura, mas os testes de amplificação são tão sensíveis quanto a cultura, e são os de escolha, quando disponíveis.

Cultura

Apesar da dificuldade em coletar *swabs* de garganta de crianças, o espécime deve ser obtido da orofaringe posterior (tonsilas). Poucas bactérias estão presentes nas áreas anteriores da boca, e como esta (particularmente a saliva) é colonizada com bactérias que inibem o crescimento de *S. pyogenes*, a contaminação até mesmo de um espécime coletado corretamente pode obscurecer ou suprimir o crescimento de *S. pyogenes*. O isolamento de *S. pyogenes* de paciente com impetigo não é um problema. A crosta da superfície da lesão é levantada e o material purulento e a base da lesão são usados para a cultura. Espécimes para cultura não devem ser obtidos de pústulas de pele que estejam abertas ou drenando, porque podem estar superinfectadas com estafilococos. Os micro-organismos são facilmente isolados em culturas de tecidos e de sangue obtidas de pacientes com fascite necrosante; entretanto, relativamente poucos micro-organismos podem estar presentes na pele de pacientes com erisipela ou celulite. Como mencionado, os estreptococos apresentam exigências de crescimento, que pode demorar a ser detectado, de modo que deve ser realizada incubação prolongada (2 a 3 dias) antes que a cultura seja considerada negativa.

Identificação

Os estreptococos do grupo A são identificados de maneira definitiva por meio da demonstração do **carboidrato grupo-específico**, uma metodologia que não era prática até a implementação de testes de detecção direta do antígeno. A diferenciação de *S. pyogenes* de outras espécies de estreptococos que também apresentam o antígeno de grupo A pode ser determinada pela suscetibilidade à **bacitracina** ou pela presença da enzima **L-pirrolidonil arilamidase (PYR)**. A suscetibilidade à bacitracina é determinada pela colocação de um disco de papel de filtro saturado com o antimicrobiano sobre uma placa com meio de cultura inoculado com estreptococos do grupo A; após incubação durante a noite, as cepas inibidas pela bacitracina são consideradas estreptococos do grupo A. O teste do PYR indica a hidrólise do L-pirrolodonil-β-naftilamida, liberando β-naftilamina, que, na presença de *p*-diaminocinamaldeído, forma um composto de cor púrpura. A vantagem desse teste específico é que leva menos de 1 minuto para determinar se a reação é positiva (*S. pyogenes*) ou negativa (todos os demais estreptococos). Enterococos são PYR positivo, mas não reagem com os antissoros do grupo A.

Detecção de Anticorpos

Os pacientes com doença por *S. pyogenes* produzem anticorpos para enzimas estreptocócicas específicas. Embora anticorpos contra proteína M sejam produzidos e importantes para manutenção da imunidade, aparecem tardiamente durante o curso clínico da doença, não sendo úteis para o diagnóstico. Por outro lado, a quantificação de anticorpos contra a estreptolisina O (teste ASO) é útil para confirmar a febre reumática ou glomerulonefrite aguda, resultantes de uma infecção estreptocócica recente de orofaringe. Esses anticorpos aparecem de 3 a 4 semanas após a exposição inicial ao microorganismo e, então, persistem. Um título elevado de ASO não é observado em pacientes com piodermia estreptocócica (veja discussão anterior). A produção de anticorpos contra outras enzimas estreptocócicas, particularmente DNase B, tem sido documentada em pacientes com piodermia e faringite estreptocócicas. O teste anti-DNase B deve ser realizado quando existe suspeita de glomerulonefrite estreptocócica.

Tratamento, Prevenção e Controle

S. pyogenes é muito sensível à penicilina. Assim, penicilina V oral ou amoxicilina podem ser usadas no tratamento da faringite estreptocócica. Para pacientes alérgicos à penicilina, pode ser usada uma cefalosporina oral ou um macrolídeo. O uso combinado de penicilina intravenosa com um antimicrobiano inibidor de síntese proteica (p.ex., clindamicina) é recomendado para o tratamento de infecções sistêmicas graves. A presença de resistência ou resposta clínica pobre tem limitado a utilização de tetraciclinas e sulfonamidas. Também, a resistência à eritromicina e aos macrolídeos mais novos

(p.ex., azitromicina, claritromicina) vem aumentando. Em pacientes com infecções graves em tecidos moles, a drenagem e o desbridamento cirúrgico agressivo devem ser prontamente iniciados.

O estado de portador persistente de *S. pyogenes* na orofaringe pode ocorrer após o curso terapêutico completo. Esse estado pode ser o resultado da falta de cumprimento do tratamento prescrito, reinfecção com uma nova cepa, ou de estado de portador persistente em um foco infeccioso fixo. Nos pacientes que mantêm o estado de portador do micro-organismo na orofaringe, a prescrição de penicilina pode ser estendida para um período adicional de tratamento, pois ainda não foi observada resistência à penicilina. Se o estado de portador persistir, a repetição do tratamento não é indicada, porque o uso prolongado de antimicrobianos interfere na microbiota normal. A antibioticoterapia em pacientes com faringite acelera o alívio dos sintomas e, caso seja iniciada nos 10 primeiros dias de doença clínica, previne a febre reumática. Porém, parece não influenciar a progressão da glomerulonefrite aguda.

Os pacientes com um histórico de febre reumática necessitam de **profilaxia antimicrobiana** prolongada para prevenir a recorrência da doença. Como o dano às válvulas cardíacas predispõe esses pacientes à endocardite, eles também necessitam de profilaxia antimicrobiana antes de sofrer procedimentos que possam induzir bacteremias transitórias (p.ex. procedimentos dentários). No entanto, antibioticoterapia específica não altera o curso da glomerulonefrite aguda e a profilaxia não é indicada, porque a recorrência da doença não é observada nesses casos.

Streptococcus agalactiae

S. agalactiae é a única espécie que possui o antígeno de grupo B. Esse micro-organismo foi inicialmente reconhecido como uma causa de sepse puerperal. Embora essa doença seja hoje relativamente incomum, S. agalactiae se tornou mais conhecido como uma causa importante de sepse, pneumonia e meningite em crianças recém-nascidas, bem como uma causa de doenças graves em adultos (Quadro 19-1).

Fisiologia e Estrutura

Os estreptococos do grupo B são cocos Gram-positivos (0,6 a 1,2 µm) que formam cadeias curtas nos espécimes clínicos e cadeias mais longas em cultura, características que os tornam indistinguíveis de *S. pyogenes* na coloração de Gram. Crescem bem em meios nutricionalmente enriquecidos, e ao contrário das colônias de *S. pyogenes*, as colônias de *S. agalactiae* são grandes, com uma estreita zona de µ-hemólise. Algumas cepas (1% a 2%) não são hemolíticas, embora sua prevalência possa estar subestimada uma vez que as cepas não hemolíticas não são comumente investigadas quanto à presença do antígeno de grupo B.

Cepas de *S. agalactiae* podem ser caracterizadas com base em três marcadores sorológicos: (1) o **antígeno polissacarídico grupo-específico de parede celular ou antígeno de grupo B** (antígeno de grupo de Lancefield); (2) nove **polissacarídeos capsulares tipo-específicos** (Ia, Ia/c e II a VIII); e (3) **proteínas de superfície** (a mais comum é o **antígeno c**). Os polissacarídeos tipo-específicos são importantes marcadores epidemiológicos, com os sorotipos Ia, Ib, II, III e V mais comumente associados a colonização e doença. O conhecimento dos sorotipos específicos associados à doença e da mudança nos padrões de prevalência dos sorotipos é importante para o desenvolvimento de vacina.

Patogênese e Imunidade

O polissacarídeo capsular é o mais importante fator de virulência de *S. agalactiae*, o qual interfere na fagocitose, até que o paciente desenvolva anticorpos específicos. Os anticorpos dirigidos para os antígenos capsulares tipo-específicos são protetores, o que explica parcialmente a predileção do micro-organismo por recém-nascidos. Na ausência de anticorpos maternos, os recém-nascidos apresentam risco de contrair a doença. Além disso, a colonização genital com estreptococos do grupo B tem sido associada ao risco aumentado para parto prematuro; crianças prematuras apresentam risco ainda maior para a doença. As vias clássicas e alternativas funcionais do sistema complemento são necessárias para matar os estreptococos do grupo B, particularmente dos tipos Ia, III e V. Como resultado, existe uma maior probabilidade de disseminação sistêmica do micro-organismo em crianças prematuras colonizadas e fisiologicamente com **níveis baixos do sistema complemento**, ou em crianças nas quais os receptores para complemento, ou para o fragmento Fc de anticorpos imunoglobulina (Ig)G, não estão expostos nos neutrófilos. Também tem sido observado que os polissacarídeos capsulares tipo-específicos Ia, Ib e II apresentam um resíduo terminal de ácido siálico. O **ácido siálico** pode inibir a ativação da via alternativa do sistema complemento, interferindo assim com a fagocitose dessas cepas de estreptococos do grupo B.

Epidemiologia

Os estreptococos do grupo B colonizam o trato gastrointestinal inferior e o trato geniturinário. O estado de portador transitório vaginal tem sido observado em 10% a 30% de mulheres grávidas, embora a incidência observada dependa do período da gestação quando a amostra é coletada e das técnicas de cultura utilizadas.

Aproximadamente 60% das crianças nascidas de mães colonizadas tornam-se colonizadas com micro-organismos provenientes da mãe. A probabilidade de colonização ao nascimento é maior quando a mãe está colonizada com o micro-organismo em grande número. Outras associações para a colonização neonatal são: parto prematuro, ruptura prolongada de membrana e febre intraparto. A doença em crianças menores de 7 dias de idade é chamada de **doença de início precoce**; a doença que surge entre a primeira semana e 3 meses de idade é considerada **doença de início tardio**. Os sorotipos mais

comumente associados à doença de início precoce são: Ia (35% a 40%), III (30%) e V (15%). O sorotipo III é responsável pela maioria dos casos da doença de início tardio. Os sorotipos Ia e V são os mais comuns nas doenças do adulto.

A colonização com subsequente desenvolvimento de doença no recém-nascido pode ocorrer no útero, ao nascer ou durante os primeiros meses de vida. *S. agalactiae* é a causa mais comum de sepse e meningite bacterianas em recémnascidos. O uso de profilaxia antimicrobiana intraparto é responsável pelo significativo declínio de doença neonatal — de aproximadamente 8.000 infecções em 1993 para 1.800 infecções em 2002.

O risco da doença invasiva em adultos é maior em mulheres grávidas que em homens e mulheres não grávidas. As manifestações mais comuns nas mulheres grávidas são as infecções do trato urinário, amnionite, endometrite e infecções de ferida. Nos homens e mulheres não grávidas, as infecções de pele e tecido mole, bacteremia, urossepse (infecção do trato urinário com bacteremia) e pneumonia são as mais comuns. As condições que predispõem ao desenvolvimento de doença em adultos na ausência de gravidez incluem diabetes melito, doença crônica renal ou hepática, câncer e infecção com HIV.

Doenças Clínicas

Doença Neonatal de Início Precoce

Os sinais clínicos da doença causada por estreptococos do grupo B adquirida ainda no útero ou ao nascimento se a primeira semana de vida. Α doença de início precoce, por bacteremia, pneumonia ou meningite, é indistinguível da sepse causada por outros micro-organismos. Como o comprometimento pulmonar é observado na maioria das crianças, o acometimento meníngeo pode ser inicialmente não aparente, tornando o exame do líquido cefalorraquidiano (LCR) necessário para todas as crianças infectadas. A taxa de mortalidade diminuiu para menos de 5%, em decorrência do diagnóstico rápido e melhor terapia de suporte; entretanto, 15% a 30% das crianças que sobrevivem à meningite apresentam sequelas neurológicas graves, incluindo cegueira, surdez e retardo mental.

Doença Neonatal de Início Tardio (Caso Clínico 19-2)

A doença de início tardio é adquirida de uma fonte exógena (p.ex., mãe, outra criança) e se desenvolve entre 1 semana e 3 meses de idade. A manifestação clínica predominante inclui a associação de **bacteremia à meningite**, semelhante a doenças causadas por outros micro-organismos. Apesar de a taxa de mortalidade ser baixa (p.ex., 3%), complicações neurológicas são comuns nas crianças com meningite (p.ex., 25% a 50%).



Caso Clínico 19-2 Doença no Recém-nascido por Estreptococos do Grupo B

O seguinte caso clínico é uma descrição da doença de início tardio por estreptococos do grupo B em um recém-nascido (Hammersen, et al: Eur J Pediatr 126:189-197, 1977). Uma criança do sexo masculino, pesando 3.400 gramas, nasceu a termo de parto normal. Os exames físicos foram normais durante a primeira semana de vida; no entanto, a partir da segunda semana, começou a se alimentar de forma irregular. No 13° dia, o bebê foi admitido no hospital com convulsões generalizadas. Uma pequena quantidade do líquido cefalorraquidiano turvo foi coletada por punção lombar e na cultura foi isolado Streptococcus agalactiae do sorotipo III. Apesar do início rápido da antibioticoterapia, o bebê desenvolveu hidrocefalia e necessitou de uma derivação atrioventricular. A criança recebeu alta aos 3,5 meses de idade com retardo no desenvolvimento psicomotor. Esse paciente ilustra um caso de meningite neonatal causada pelo sorotipo de estreptococos do grupo B prevalente em uma doença de início tardio; e demonstra as complicações associadas a essa infecção.

Infecções em Mulheres Grávidas

Endometrite pós-parto, infecções de ferida e infecções do trato urinário ocorrem em mulheres durante e imediatamente após a gravidez. Como mulheres grávidas normalmente estão com boa saúde, o prognóstico é excelente para aquelas que recebem terapia apropriada. Complicações secundárias da bacteremia, como endocardite, meningite e osteomielite, são raras.

Infecções em Homens e em Mulheres não Grávidas

Comparando-se às mulheres grávidas que adquirem infecção por estreptococos do grupo B, os homens e as mulheres não grávidas são geralmente mais velhos e apresentam doenças de base debilitantes. As apresentações mais comuns são bacteremia, pneumonia, infecções em ossos e articulações, bem como infecções de pele e tecidos moles. A mortalidade é bem mais elevada nessa população, pois esses pacientes frequentemente apresentam-se imunocomprometidos.

Diagnóstico Laboratorial

Detecção de Antígenos

Testes para a detecção direta de estreptococos do grupo B em espécimes urogenitais estão disponíveis, mas não são sensíveis para serem utilizados na triagem de mães e para predizer quais recém-nascidos apresentam risco de aquisição da

doença neonatal. Da mesma maneira, os testes de detecção de antígenos não são sensíveis (< 30%) para serem utilizados para LCR. A coloração de Gram do LCR é muito mais sensível e deve ser utilizada.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Ensaios de amplificação de ácidos nucleicos baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) são aprovados pela U.S. Food and Drug Administration (FDA) para *swabs* retal/vaginal de mulheres grávidas. Os testes são relativamente insensíveis, por isso o teste deve ser realizado utilizando um meio de cultura com enriquecimento seletivo (p.ex., meio de Lim) em vez de diretamente com as amostras clínicas.

Cultura

Os estreptococos do grupo B crescem prontamente em meio nutricionalmente enriquecido, produzindo colônias grandes, após 24 horas de incubação; no entanto, a β-hemólise pode ser difícil de ser visualizada ou estar ausente, sendo um problema para detecção quando outros micro-organismos estão presentes na cultura (p.ex., cultura de secreção vaginal). Assim, a utilização de um meio de cultura com enriquecimento seletivo, com antibióticos adicionados para suprimir o crescimento de outros organismos (p.ex., meio de LIM com colistina e ácido nalidíxico) e seguido de subcultura para meios não seletivos, tais como uma placa de ágar de sangue, é atualmente recomendada pelo CDC para a detecção de estreptococos do grupo B em mulheres entre as 35 e 37 semanas de gravidez.

Identificação

Os estreptococos do grupo B são identificados definitivamente pela demonstração do carboidrato grupo-específico da parede celular.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os estreptococos do grupo B são suscetíveis à **penicilina**, que é o fármaco de escolha. Como outros micro-organismos podem ser responsáveis pela doença neonatal (p.ex., *S. penumoniae, Listeria*, bastonetes Gram-negativos), na terapia empírica devem ser selecionados antimicrobianos de amplo espectro. Em pacientes alérgicos à penicilina, pode ser usada uma cefalosporina ou vancomicina. A resistência aos macrolídeos, clindamicina e tetraciclinas é comum, de modo que esses fármacos não devem ser utilizados, a menos que sua atividade tenha sido demonstrada *in vitro*.

Em um esforço para prevenir a doença neonatal, é recomendado que todas as mulheres grávidas sejam **rastreadas para colonização** com estreptococos do grupo B entre a 35ª e a 37ª semana de gestação (para informação adicional, consulte o seguinte documento do CDC: www.cdc.gov/groupbstrep/guidelines/index.html). **Quimioprofilaxia** deve ser utilizada para todas as mulheres que estejam colonizadas, ou que sejam de alto risco. Uma mulher grávida é considerada de alto risco ao dar à luz um bebê com doença invasiva por estreptococos do grupo B, quando previamente já teve uma criança com a doença ou se fatores de risco estiverem presentes no momento do nascimento. Os fatores de risco são: (1) temperatura intraparto de pelo menos 38°C; (2) ruptura de membrana pelo menos 18 horas antes do parto; e (3) cultura vaginal ou retal positiva para o micro-organismo da 35ª à 37ª semana de gestação. É recomendada a administração de penicilina G ou ampicilina intravenosa pelo menos 4 horas antes do parto; cefazolina é utilizada em mulheres alérgicas à penicilina; ou clindamicina (se a cepa for suscetível) ou vancomicina para mães com risco de anafilaxia. Essa estratégia garante níveis elevados de anticorpos protetores no sistema circulatório da criança no momento do nascimento.

Em decorrência da doença no recém-nascido estar associada ao decréscimo de anticorpos circulantes na mãe, esforços têm sido direcionados para o desenvolvimento de uma vacina polivalente contra os sorotipos Ia, Ib. II, III e V. Os polissacarídeos capsulares são imunógenos fracos; no entanto, quando complexados com toxoide tetânico, têm melhorado a imunogenicidade da vacina. Ensaios clínicos com essa vacina polivalente demonstraram que níveis protetores de anticorpos foram induzidos em modelo animal; entretanto, nenhuma vacina licenciada está disponível no momento.

Outros estreptococos β-hemolíticos

Entre os outros estreptococos β-hemolíticos, os grupos C, F e G são os mais comumente associados à doença humana. Micro-organismos de importância particular são o grupo dos *Streptococcus anginosus* (que inclui *S. anginosus, Streptococcus constelatus* e *Streptococcus intermedius*) e *Streptococcus dysgalactiae*. Os membros β-hemolíticos do grupo *S. anginosus* podem possuir o antígeno polissacarídico do grupo A, C, F ou G (ou não apresentar nenhum antígeno grupo-específico), e *S. dysgalactiae* pode ter antígeno de grupo C ou G. Deve ser observado que cada cepa individual apresenta um único antígeno de grupo. Cepas do grupo *S. anginosus* crescem como colônias pequenas (necessitando de 2 dias de incubação) com uma zona estreita de β-hemólise (Fig. 19-5A). Essas espécies estão principalmente associadas à formação de abscessos e não à faringite, contrastando com *S. pyogenes*, o outro *Streptococcus* do grupo A. *S. dysgalactiae* produz colônias grandes com ampla zona de β-hemólise em meio ágar-sangue (Fig. 19-5B), semelhante ao *S. pyogenes*. Além disso, *S. dysgalactiae* causa faringite, que é algumas vezes complicada com glomerulonefrite aguda, mas nunca com febre reumática.

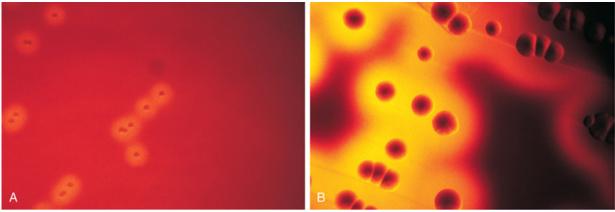


FIGURA 19-5 Streptococcus do grupo C. **A**, S. anginosus, espécie formadora de colônias pequenas. **B**, S. dysgalactiae, espécie formadora de colônias grandes.

Estreptococos viridans

O grupo viridans é um conjunto heterogêneo de estreptococos α-hemolíticos e não hemolíticos (Fig. 19-6). Muitas espécies e subespécies foram identificadas, e a maioria é classificada em cinco subgrupos. Esse esquema de classificação é clinicamente importante tendo em vista que muitas das espécies nos cinco subgrupos são responsáveis por doenças específicas (Tabela 19-4). Alguns membros dos estreptococos viridans (p.ex., o grupo S. anginosus) podem incluir cepas β-hemolíticas apresentando polissacarídeo de parede celular grupo-específico (contribuindo assim para uma confusão na taxonomia deste gênero). Além disso, S. pneumoniae é um membro do subgrupo Streptococcus mitis, embora a maioria dos médicos e microbiologistas não pense em S. pneumoniae como estreptococos viridans; isso será discutido separadamente neste capítulo.

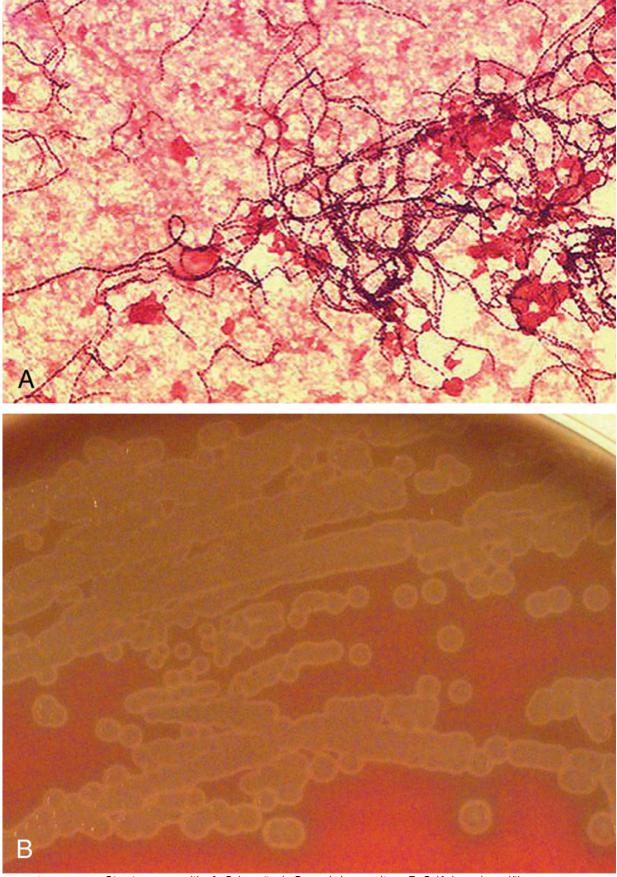


FIGURA 19-6 Streptococcus mitis. A, Coloração de Gram de hemocultura. B, Colônias α-hemolíticas.

Os estreptococos *viridans* colonizam a orofaringe, o trato gastrointestinal e o trato geniturinário. De maneira semelhante à maioria dos estreptococos, as espécies de *viridans* são nutricionalmente exigentes, necessitando de meios complexos suplementados com sangue e, frequentemente, de uma atmosfera com 5% a 10% de dióxido de carbono.

Embora a maioria das cepas de estreptococos *viridans* seja amplamente sensível à penicilina, com concentrações inibitórias mínimas (CIM) menores que 0,1 μg/mL, estreptococos moderadamente resistentes (CIM para penicilina de 0,2 a 2 μg/mL) e altamente resistentes (CIM > 2 μg/mL) tornam-se comuns no grupo *S. mitis*. Infecções com cepas que são moderadamente resistentes em geral podem ser tratadas com uma combinação de penicilina e um aminoglicosídeo; no

entanto, antimicrobianos alternativos, tais como cefalosporinas de amplo espectro ou vancomicina, devem ser usados para tratar as infecções graves.

Streptococcus pneumoniae

S. pneumoniae foi primeiramente isolado por Pasteur e Steinberg, há mais de 100 anos. Desde aquele tempo, as pesquisas desenvolvidas com esse micro-organismo têm levado a um melhor entendimento da genética molecular, resistência aos antimicrobianos e imunoprofilaxia relacionada com a vacinação. Infelizmente, a doença pneumocócica ainda é uma das principais causas de morbidade e mortalidade.

Fisiologia e Estrutura

Os pneumococos são cocos Gram-positivos **encapsulados**. As células apresentam de 0,5 a 1,2 μ m de diâmetro, são ovais e dispostas aos pares (comumente denominadas **diplococos**) ou em cadeias curtas (Fig. 19-7). Células mais velhas descolorem prontamente e aparecem como Gram-negativas. A morfologia colonial é variável. As colônias de cepas encapsuladas são geralmente grandes (1 a 3 μ m de diâmetro em ágar-sangue; menores em ágar-chocolate), redondas e mucoides; as colônias de cepas não encapsuladas são menores e planas. Todas as colônias sofrem autólise com o tempo — isto é, a região central da colônia se desfaz, resultando em uma aparência côncava. As colônias são α -hemolíticas em meio de ágar-sangue, se incubadas em aerobiose, podendo ser β -hemolíticas, se cultivadas em anaerobiose. A aparência α -hemolítica resulta da produção de **pneumolisina**, uma enzima que degrada a hemoglobina, produzindo um produto esverdeado.

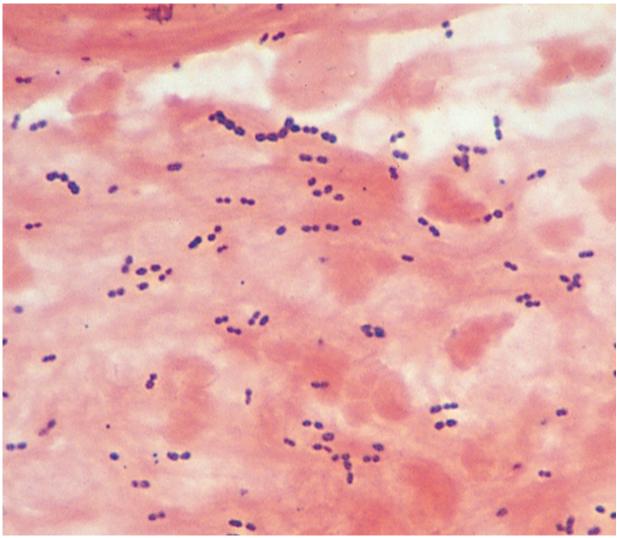


FIGURA 19-7 Coloração de Gram de Streptococcus pneumoniae.

O micro-organismo apresenta necessidades nutricionais exigentes e cresce apenas em meio enriquecido, suplementado com sangue. *S. pneumoniae* pode fermentar carboidratos, sendo o ácido lático o principal subproduto metabólico. *S. pneumoniae* cresce pouco em meios com concentrações elevadas de glicose, porque o ácido lático atinge rapidamente níveis tóxicos nessas preparações. De maneira semelhante a todos os estreptococos, esses micro-organismos não produzem catalase. A menos que uma fonte exógena de catalase (p.ex., sangue) seja fornecida, o acúmulo de peróxido de hidrogênio inibe o crescimento de *S. pneumoniae*, como observado em ágar-chocolate.

As cepas virulentas de *S. pneumoniae* são recobertas com uma complexa **cápsula polissacarídica**. O polissacarídeo capsular é utilizado para classificação sorológica das cepas; atualmente, 94 sorotipos são reconhecidos. Polissacarídeos capsulares purificados dos sorotipos mais frequentes são utilizados em uma **vacina polivalente**. Cepas individuais de *S. pneumoniae* podem alternar os sorotipos capsulares através de recombinação genômica e mutações pontuais nos genes capsulares. A recombinação também está associada à aquisição de genes que codificam para a resistência à penicilina, por isso a utilização de vacinas ou antibióticos pode facilitar a seleção e disseminação de novos sorotipos capsulares.

A camada do peptidoglicano de parede celular dos pneumococos é típica dos cocos Gram-positivos. Cadeias oligopeptídicas estão ligadas às subunidades alternadas de *N*-acetilglicosamina e *N*-acetilmurâmico, que, por sua vez, estão ligadas de forma cruzada por pontes de pentaglicina. Outro componente principal da parede celular é o ácido teicoico. Existem duas formas de ácido teicoico na parede celular de pneumococos, uma exposta na superfície celular, e a outra, de estrutura semelhante, encontra-se ligada aos lipídios da membrana citoplasmática. O ácido teicoico exposto é ligado à camada de peptidoglicano e se estende através da cápsula. Essa estrutura espécie-específica, chamada de **polissacarídeo C**, não é relacionada com o carboidrato grupo-específico observado por Lancefield nos estreptococos β-hemolíticos. O polissacarídeo C precipita uma fração de globulina sérica (**proteína C-reativa [PCR]**), na presença de cálcio. A PCR está presente em concentrações baixas em pessoas sadias, mas em concentrações elevadas em pacientes com doenças inflamatórias agudas (assim, monitorar os níveis de PCR é utilizado para predizer inflamação). O ácido teicoico ligado aos lipídios da membrana citoplasmática bacteriana é chamado de **antígeno F**, porque pode determinar reação cruzada com o antígeno de Forssman presente na superfície das células de mamíferos. Ambas as formas de ácido teicoico estão associadas a resíduos de fosforilcolina. A **fosforilcolina** é específica da parede celular de *S. pneumoniae* e desempenha um importante papel como reguladora da hidrólise da parede celular. A atividade da autolisina pneumocócica, **amidase**, durante a divisão celular é dependente da presença de fosforilcolina.

Patogênese e Imunidade

Embora *S. pneumoniae* tenha sido extensivamente estudado, muito ainda permanece por ser aprendido acerca da patogênese da doença pneumocócica. As manifestações da doença são causadas principalmente pela resposta do hospedeiro à infecção, mais que pela produção de fatores tóxicos específicos do micro-organismo. No entanto, é crucial o entendimento de como *S. pneumoniae* coloniza a orofaringe, dissemina-se nos tecidos normalmente estéreis, estimula a resposta inflamatória localizada e evade da morte por células fagocíticas.

Colonização e Migração

S. pneumoniae é um patógeno humano que coloniza a orofaringe e então, em situações específicas, é capaz de se disseminar para os pulmões, seios paranasais ou para o ouvido médio. Também pode ser transportado no sangue para locais distantes como o cérebro. A colonização inicial da orofaringe é mediada pela ligação da bactéria às células epiteliais, por adesinas proteicas de superfície. A migração posterior do micro-organismo para o trato respiratório inferior pode ser evitada, caso ele seja envolvido pelo muco e removido das vias respiratórias por ação das células epiteliais ciliadas. As bactérias neutralizam essas ações produzindo protease IgA (para IgA secretora) e pneumolisina. A IgA secretora prende as bactérias no muco, ligando-as à mucina pela sua região Fc. A protease IgA bacteriana evita essa interação. Pneumolisina, uma citotoxina semelhante à estreptolisina O de S. pyogenes, se liga ao colesterol da membrana das células do hospedeiro e cria poros. Essa atividade pode destruir as células epiteliais ciliadas e fagocíticas.

Destruição de Tecidos

Uma característica das infecções pneumocócicas é a mobilização de células inflamatórias para o foco infeccioso. O processo é mediado pelo ácido teicoico pneumocócico, fragmentos do peptidoglicano e pneumolisina. **Ácido teicoico** e **fragmentos do peptidoglicano** ativam a via alternativa do complemento, produzindo C5a, que vai mediar o processo inflamatório. Essa atividade é aumentada pela enzima bacteriana **amidase**, que aumenta a liberação de componentes da parede celular. **Pneumolisina** ativa a via clássica do complemento, resultando na produção de C3a e C5a. Por sua vez, citocinas, tais como interleucina (IL)-1 e fator de necrose tumoral (TNF)-α, são produzidas por leucócitos ativados, levando a posterior migração de células inflamatórias para o ponto infeccioso, febre, dano tecidual e outros sinais característicos da infecção pneumocócica. A produção de **peróxido de hidrogênio** por *S. pneumoniae* também pode levar ao dano tecidual causado por intermediários reativos do oxigênio.

Finalmente, a **fosforilcolina** presente na parede celular bacteriana pode se ligar aos receptores do fator de ativação plaquetária, que são expressos na superfície de células endoteliais, leucócitos, plaquetas e células de certos tecidos, como pulmões e meninges. Pela ligação a esses receptores, as bactérias podem entrar nas células, onde são protegidas da opsonização e fagocitose, passando por áreas como sangue e o sistema nervoso central. Essa atividade facilita a disseminação da doença.

Sobrevivência em Fagócitos

S. pneumoniae sobrevive à fagocitose, devido à proteção exercida pela **cápsula** e pela supressão da explosão (burst) oxidativa dos fagócitos, que é necessária à morte intracelular, mediada pela pneumolisina. A virulência de S. pneumoniae é um resultado direto da cápsula. Cepas encapsuladas (lisas) podem causar doença em humanos e em animais de experimentação, enquanto cepas não capsuladas (rugosas) não são virulentas. Anticorpos dirigidos para o polissacarídeo

capsular tipo-específico protegem contra a doença causada por cepas imunologicamente relacionadas, de modo que a permuta capsular permite a uma cepa evitar a depuração imunológica. Os polissacarídeos capsulares são solúveis e têm sido denominados de **substâncias solúveis específicas**. Polissacarídeos livres podem proteger os micro-organismos viáveis da fagocitose, ligando-se aos anticorpos opsonizantes.

Epidemiologia

S. pneumoniae é um habitante comum da orofaringe e da nasofaringe de indivíduos saudáveis, sendo a colonização mais comum nas crianças que nos adultos, e em adultos que vivem em ambiente com crianças. A colonização ocorre aos 6 meses de idade. Subsequentemente, a criança passa a ser colonizada de forma transitória com outros sorotipos desse microorganismo. A duração do estado de portador diminui a cada novo estágio sucessivo de colonização, em parte devido ao surgimento de imunidade sorotipo-específica. Embora novos sorotipos sejam adquiridos durante o ano, a incidência de portadores e doenças associadas é mais elevada durante os meses de inverno. As cepas de pneumococos que causam doença são as mesmas que estão associadas ao estado de portador.

A doença pneumocócica ocorre quando o micro-organismo colonizador da nasofaringe e orofaringe se dissemina para os pulmões (pneumonia), seios paranasais (sinusite), ouvido (otite média), ou meninges (meningite). A disseminação de *S. pneumoniae* para o sangue ou para outros pontos corpóreos pode ocorrer em todas essas doenças. Reconhece-se que alguns sorotipos têm uma predileção maior para a doença invasiva pneumocócica.

Apesar da implementação de vacinas para as populações pediátrica e adulta ter reduzido a incidência da doença causada por *S. pneumoniae*, o micro-organismo ainda é uma causa comum de pneumonia bacteriana comunitária (fora do ambiente hospitalar), meningite, otite média, sinusite e bacteremia. A doença é mais frequente em crianças e idosos com níveis baixos de anticorpos protetores contra os polissacarídeos capsulares de pneumococos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que mais de 200.000 crianças com menos de 5 anos morrem de pneumonia pneumocócica a cada ano.

A pneumonia ocorre quando micro-organismos endógenos da cavidade oral são aspirados para as vias aéreas inferiores. Apesar de as cepas bacterianas poderem se disseminar de uma pessoa para outra em uma população fechada através de gotículas, as epidemias são raras. A doença ocorre quando os mecanismos de defesa naturais são sobrepujados (p.ex., reflexo da epiglote, aprisionamento das bactérias pelas células produtoras de muco que revestem os brônquios, remoção dos micro-organismos pelo epitélio ciliado e reflexo da tosse), permitindo que os micro-organismos que colonizam a orofaringe ganhem acesso aos pulmões. A doença pneumocócica está muito comumente associada a uma infecção respiratória antecedente de etiologia viral, tal como influenza, ou a alguma outra condição que interfira na eliminação bacteriana, como doença pulmonar crônica, alcoolismo, insuficiência cardíaca congestiva, diabetes melito, doença renal crônica, disfunção esplênica e esplenectomia.

Doenças Clínicas

Pneumonia (Caso Clínico 19-3)

A pneumonia pneumocócica se desenvolve quando o micro-organismo se multiplica nos espaços alveolares. Após aspiração, os micro-organismos crescem de modo rápido no fluido nutricionalmente rico do edema. Eritrócitos extravasados dos capilares congestionados se acumulam nos alvéolos, seguidos dos neutrófilos, e em sequência pelos macrófagos alveolares. A resolução da infecção ocorre com o surgimento de anticorpos anticapsulares específicos, facilitando a fagocitose e morte do micro-organismo.



Caso Clínico 19-3 Pneumonia por Streptococcus pneumoniae

Costa et al. (*Am J Hematol* Coloração de Gram de *Streptococcus pneumoniae*. 77:277-281, 2004) descreveram um caso sobre uma paciente de 68 anos, do sexo feminino, que se encontrava em boa condição de saúde até 3 dias antes de ser hospitalizada. Ela desenvolveu febre, calafrios, fraqueza aumentada e uma tosse produtiva com dor torácica pleurítica. Na admissão, ela estava febril, com taxa de pulsação e respiração elevadas e um leve desconforto respiratório. Valores laboratoriais iniciais indicavam leucopenia, anemia e falência renal aguda. A radiografia do tórax demonstrou infiltrados nos lobos inferiores direito e esquerdo com derrame pleural. Foi iniciada antibioticoterapia com fluoroquinolonas, e as culturas de sangue e secreção respiratória foram positivas para *S. pneumoniae*. Testes adicionais (eletroforese de proteínas séricas e urinárias) revelaram que a paciente apresentava mieloma múltiplo. A infecção se resolveu em um curso de antibioticoterapia de 14 dias. Essa paciente ilustra uma imagem típica de pneumonia lobar pneumocócica e a suscetibilidade aumentada para infecção em pacientes com deficiências na capacidade de eliminar micro-organismos encapsulados.

As manifestações clínicas da pneumonia pneumocócica são o surgimento abrupto de calafrios com tremores intensos e febre persistente entre 39°C a 41°C. No período de 1 a 3 dias antes do aparecimento dos sintomas, o paciente frequentemente apresenta uma infecção viral do trato respiratório. A maioria dos pacientes apresenta tosse produtiva, com escarro sanguinolento, e dor torácica (pleurisia). Como a doença está associada à aspiração, é na maioria das vezes localizada nos lobos inferiores do pulmão (por isso, denominada de **pneumonia lobar**; Fig. 19-8). Entretanto, crianças e

idosos podem apresentar uma broncopneumonia generalizada. Os pacientes em geral se recuperam rapidamente após o início de antibioticoterapia apropriada, com completa resolução radiológica em 2 a 3 semanas.



FIGURA 19-8 Consolidação densa no lobo esquerdo inferior em um paciente com pneumonia causada por *Streptococcus pneumoniae*. (De Mandell G, Bennett J, Dolin R: *Principles and practice of infectious diseases*, ed 8, Philadelphia, 2015, Elsevier.)

A taxa total de mortalidade é de 5%, embora a probabilidade de morte seja influenciada pelo sorotipo do microorganismo, pela idade e a presença de doença de base do paciente. A taxa de mortalidade é consideravelmente mais elevada em pacientes com doença causada pelo sorotipo 3, assim como em idosos e pacientes com bacteremia documentada. Pacientes com disfunção esplênica ou esplenectomizados podem apresentar infecção pneumocócica grave, como resultado de uma diminuição da eliminação bacteriana da corrente sanguínea e deficiência na produção precoce de anticorpos. Nesses pacientes, a doença está associada a um curso fulminante e taxa de mortalidade elevada.

Não é comum que abscessos sejam formados em pacientes com pneumonia pneumocócica, excetuando-se naqueles com infecção por sorotipos específicos (p.ex., sorotipo 3). Derrames pleurais são identificados em cerca de 25% dos pacientes com pneumonia pneumocócica, e empiema (derrame purulento) é uma complicação rara.

Sinusite e Otite Média

S. pneumoniae é uma causa comum de infecções agudas dos seios paranasais e do ouvido. A doença é normalmente precedida de infecção viral do trato respiratório superior, que é seguida de um infiltrado de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) e obstrução dos seios paranasais e do canal auditivo. Infecção do ouvido médio (otite média) é observada principalmente em crianças pequenas, porém sinusite pode ocorrer em pacientes de qualquer idade.

Meningite

S. pneumoniae pode se disseminar para o sistema nervoso central após bacteremia, infecções no ouvido ou nos seios paranasais, ou trauma de cabeça que favoreça uma comunicação entre o espaço subaracnoide e a nasofaringe. Embora a **meningite pneumocócica** seja relativamente incomum em recém-nascidos, S. pneumoniae é na atualidade a principal causa da doença em crianças e adultos. As taxas de mortalidade e de ocorrência de complicações neurológicas são quatro a 20 vezes mais comuns em pacientes com meningite causada por S. pneumoniae que por outros micro-organismos.

Bacteremia

Bacteremia ocorre em 25% a 30% dos pacientes com pneumonia pneumocócica e em mais de 80% daqueles com meningite. Por outro lado, o micro-organismo não está presente no sangue de pacientes com sinusite ou otite média. Endocardite pode ocorrer em pacientes com válvulas cardíacas normais ou previamente danificadas. É comum a ocorrência de destruição do tecido da válvula cardíaca.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Coloração de Gram dos espécimes de escarro e líquido cefalorraquidiano (LCR) é uma forma de diagnóstico rápido da pneumonia e meningite pneumocócicas. Os micro-organismos aparecem caracteristicamente como cocos Gram-positivos alongados e aos pares, circundados por uma cápsula não corada. Entretanto, também podem parecer Gram-negativos, porque tendem a não reter apropriadamente o corante (particularmente em culturas mais velhas). Adicionalmente, a morfologia da célula bacteriana pode estar distorcida em preparações provenientes de pacientes em uso de antibioticoterapia. Uma coloração de Gram, compatível com *S. pneumoniae*, pode ser confirmada com a reação de *quellung* (do alemão para intumescimento, inchaço). Nesse teste, anticorpos polivalentes anticapsulares são misturados com os micro-organismos e, então, essa mistura é avaliada microscopicamente. Um aumento da refringência ao redor da célula bacteriana caracteriza uma reação positiva para *S. pneumoniae*. Um ensaio alternativo é misturar uma gota de bile com uma suspensão de bactérias. A bile dissolverá o *S. pneumoniae*, e nenhum organismo será visto na coloração de Gram.

Detecção de Antígenos

O polissacarídeo C de pneumococos é excretado na urina e pode ser detectado por um imunoensaio comercial. Para atingir a sensibilidade máxima, é necessário que a urina seja concentrada por ultrafiltração, antes da realização do teste. A sensibilidade relatada é de 70% em pacientes com pneumonia pneumocócica com bacteremia. Entretanto, a especificidade pode ser mais baixa, particularmente em pacientes pediátricos. Por essa razão, o teste não é recomendado para crianças com infecções suspeitas de pneumococos. O teste apresenta sensibilidade aproximada de 100% para pacientes com meningite pneumocócica, caso o LCR seja testado; no entanto, o teste apresenta baixas sensibilidade e especificidade caso seja testada a urina desses pacientes.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Os ensaios de PCR foram desenvolvidos para a identificação de isolados de *S. pneumoniae* em espécimes clínicas, tais como LCR, mas não são amplamente utilizados.

Cultura

Espécimes como o escarro devem ser inoculados em meios de cultura ricos em nutrientes e suplementados com sangue. S. pneumoniae é isolado em culturas de escarro da metade dos pacientes com pneumonia, porque esses micro-organismos apresentam necessidades nutricionais exigentes, e seu crescimento é rapidamente suplantado por bactérias contaminantes presentes na cavidade oral. Meios seletivos têm sido usados com algum sucesso para o isolamento desses micro-organismos a partir de escarro, mas requerem certa habilidade técnica para distinguir S. pneumoniae dos outros estreptococos α -hemolíticos presentes com frequência nesses espécimes. Para o diagnóstico definitivo do micro-organismo responsável por sinusite ou otite, deve ser obtido um aspirado dos seios paranasais ou ouvido médio. Não devem ser realizadas culturas para espécimes obtidos de nasofaringe ou do ouvido externo. O isolamento de S. pneumoniae a partir de LCR não é difícil, caso a antibioticoterapia não tenha sido iniciada antes da coleta do espécime. Entretanto, a cultura será negativa em cerca de metade dos pacientes que tenham recebido ao menos uma única dose de antimicrobianos.

Identificação

Cepas de *S. pneumoniae* são rapidamente lisadas quando autolisinas são ativadas após a exposição à bile (**teste da solubilidade da bile**). Assim, o micro-organismo pode ser identificado colocando-se uma gota de bile sobre uma colônia isolada. A maioria das colônias de *S. pneumoniae* é dissolvida em poucos minutos, enquanto outros estreptococos α-hemolíticos se mantêm inalterados. *S. pneumoniae* podem ser identificados pela suscetibilidade à **optoquina** (cloridrato de etil-hidrocupreína). A bactéria é semeada em ágar-sangue, e um disco saturado com optoquina é depositado no meio do inóculo. Uma zona de inibição do crescimento bacteriano é visualizada ao redor do disco, após incubação por 18 horas. Testes diagnósticos bioquímicos, sorológicos ou moleculares podem ser realizados para uma identificação definitiva.

Tratamento, Prevenção e Controle

Historicamente, **penicilina** era o tratamento de escolha para as doenças pneumocócicas. Entretanto, em 1977, pesquisadores da África do Sul relataram o isolamento de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a diversos antimicrobianos, incluindo a penicilina. Embora a resistência a níveis elevados de penicilina ainda fosse relativamente incomum (CIM de pelo menos 2 μg/ml), essa situação mudou drasticamente a partir de 1990. Atualmente, a resistência à penicilina é observada em pelo menos metade das cepas isoladas nos Estados Unidos e em outros países. Tal resistência está associada à redução da afinidade do antimicrobiano com as proteínas ligadoras de penicilina, presentes na parede celular bacteriana. Os pacientes infectados com cepas resistentes têm um risco maior de desfecho desfavorável. Resistência aos macrolídeos (p.ex.,

eritromicina), tetraciclinas, e cefalosporina de espectro mais restrito (p.ex., ceftriaxona) também se tornou comum. Assim, para as infecções pneumocócicas graves, é recomendado tratamento com uma combinação de antimicrobianos, até que os resultados dos testes de suscetibilidade *in vitro* estejam disponíveis. A combinação de **vancomicina** com **ceftriaxona** é frequentemente utilizada para o tratamento empírico, seguida de monoterapia com uma cefalosporina, fluoroquinolona ou vancomicina

Esforços para prevenção ou controle da doença pneumocócica têm focado o desenvolvimento de vacinas anticapsulares eficazes. A vacina pneumocócica polissacarídica 23-valente (com 23 polissacarídeos capsulares diferentes) é recomendada para crianças maiores de 2 anos e para adultos. Polissacarídeos são antígenos T-independentes, que ativam linfócitos B maduros, mas não linfócitos T. Crianças muito pequenas respondem fracamente a antígenos T-independentes; assim, vacinas polissacarídicas são ineficazes para essa população. Por outro lado, polissacarídeos conjugados a proteínas estimulam a resposta por células T auxiliares, resultando em uma forte resposta primária em crianças e uma resposta eficaz ao reforço, quando reimunizadas. Essa estratégia de utilizar vacinas conjugadas para imunizações pediátricas também tem sido empregada para outros patógenos neonatais, como Haemophilus influenzae. A imunização com a vacina pneumocócica conjugada 13-valente é atualmente recomendada para crianças menores de 2 anos. Enquanto uma única dose da vacina 23valente é em geral eficaz, uma série de quatro doses (aos 2, 4, 6 e entre 12 e 15 meses de idade) é recomendada para a vacina conjugada 13-valente. A eficácia dessas vacinas é determinada pelo emprego dos sorotipos prevalentes de S. pneumoniae responsáveis por doenças invasivas na população. Desse modo, essas vacinas são geralmente eficazes para a população dos Estados Unidos e da Europa, sendo menos eficientes em países em desenvolvimento, porque sorotipos prevalentes nesses locais não estão representados em suas formulações. Adicionalmente, apesar de a vacina 23-valente ser imunogênica em adultos normais e a imunidade induzida ser duradoura, ela é menos eficaz em pacientes com risco elevado de aquisição de infecções pneumocócicas, incluindo: (1) pacientes com asplenia, anemia falciforme, neoplasia hematológica e infecção por HIV; (2) pacientes que fizeram transplante renal; e (3) idosos.

Enterococcus

Fisiologia e Estrutura

Os enterococos são cocos Gram-positivos tipicamente arranjados em pares e cadeias curtas (Fig. 19-9). A morfologia celular ao microscópio desses isolados não permite distingui-los com segurança dos isolados de S. *pneumoniae*. Enterococos crescem tanto em aerobiose como em anaerobiose, em uma ampla baixa de temperatura (10°C a 45°C) e pH (4,6 a 9,9), e em presença de alta concentração de cloreto de sódio (NaCl) e sais biliares. Assim, existem poucas condições clínicas capazes de inibir seu crescimento. A bactéria fermenta a glicose, tendo o ácido lático como principal produto (enterococos são frequentemente mencionados como *bactérias láticas*). Após 24 horas de incubação, as colônias em ágar-sangue são grandes, podendo se apresentar sem hemólise, α-hemolíticas, ou raramente β-hemolíticas.

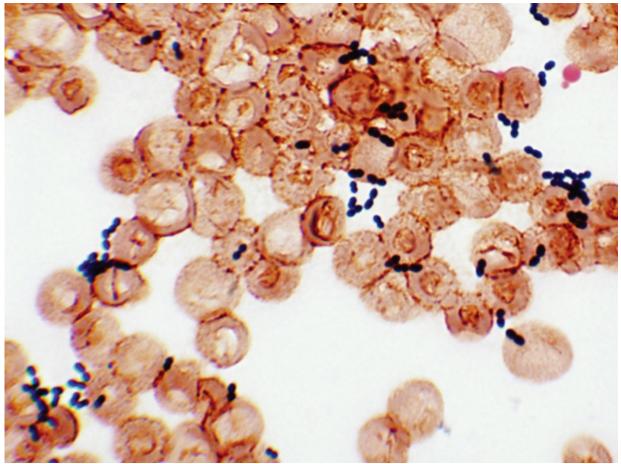


FIGURA 19-9 Coloração de Gram de Enterococcus faecalis em hemocultura.

Patogênese e Imunidade

Ainda que os enterococos não possuam a variedade de fatores de virulência encontrados em estreptococos e estafilococos, doenças graves com cepas resistentes se tornaram um problema em pacientes hospitalizados. A virulência é mediada por duas propriedades gerais: (1) capacidade de aderir a tecidos e formar biofilme, e (2) resistência a antibióticos. Vários fatores têm sido descritos como mediadores da aderência e formação de biofilme, tais como proteínas de superfície, glicolipídios de membrana, gelatinase e *pili*. Enterococos também apresentam **resistência intrínseca a muitos antibióticos comumente usados** (p.ex., oxacilina e cefalosporinas) ou adquirem genes de resistência (p.ex., a aminoglicosídeos e vancomicina). O *clearence* do enterococo no sangue e tecidos é mediado pelo rápido influxo de neutrófilos e pela opsonização da bactéria, de modo que pacientes imunocomprometidos são particularmente suscetíveis a infecções enterocócicas.

Epidemiologia

Como o próprio nome sugere, enterococos são bactérias entéricas, comumente isoladas de fezes humanas e de vários animais. *E. faecalis* é encontrado em altas concentrações no intestino grosso (10⁵ a 10⁷ bactérias/grama de fezes) e trato geniturinário. A distribuição de *E. faecium* é similar à de *E. faecalis*, embora seja encontrado em menor quantidade. Fatores de risco para infecções enterocócicas incluem uso de cateter urinário ou intravascular, hospitalização prolongada e uso de **antibióticos de amplo espectro**, especialmente aqueles que são inerentemente inativos contra o enterococo.

A prevalência de muitas das outras espécies de enterococos é desconhecida, ainda que se acredite que colonizem o trato intestinal em pequeno número. Duas espécies frequentemente encontradas no intestino humano são *E. gallinarum* e *E. casseliflavus*. Essas espécies relativamente avirulentas são importantes porque, embora raramente associadas a doenças no ser humano, são resistentes à vancomicina e podem ser confundidas com as espécies mais importantes *E. faecalis* e *E. faecium*.

Doenças Clínicas (Quadro 19-1)

Enterococos são patógenos importantes, especialmente em pacientes hospitalizados; de fato os enterococos são uma das causas mais frequentes de infecções adquiridas no hospital (**infecções hospitalares**). O trato urinário é o local mais comum de infecções enterocócicas, associadas com frequência à cateterização ou à instrumentação urinária. As infecções podem ser assintomáticas, cistite não complicada ou cistite associada à pielonefrite. Infecções do peritônio são tipicamente polimicrobianas (i.e., associadas a outras bactérias aeróbias ou anaeróbias) e relacionadas com o extravasamento de bactérias intestinais, seja por trauma ou devido a doenças que comprometam a integridade intestinal. Enterococos isolados

no sangue podem ocorrer por disseminação de infecção localizada no trato urinário, peritônio ou um tecido, ou podem representar infecção primária do endocárdio (endocardite). Endocardite é uma infecção especialmente séria, porque muitos enterococos são resistentes aos antibióticos mais frequentemente usados (Caso Clínico 19-4).

Diagnóstico Laboratorial

Enterococos crescem rapidamente em meios não seletivos como ágar-sangue e ágar-chocolate. Ainda que em materiais corados pelo Gram eles possam ser semelhantes a *S. pneumoniae*, podem ser prontamente diferenciados por meio de reações bioquímicas simples. Por exemplo, enterococos são resistentes à optoquina (*S. pneumoniae* é sensível), não são solúveis em bile (*S. pneumoniae* é solúvel) e produzem L-pirrolidonil arilamidase (PYR) (o único estreptococo PYR-positivo é o *Streptococcus pyogenes*). O **teste de PYR** normalmente é realizado por métodos rápidos (5 minutos). Cocos Gram-positivos arranjados em pares e cadeias curtas, PYR-positivos e catalase-negativos podem ser presuntivamente identificados como enterococos. Propriedades fenotípicas (como produção de pigmento, motilidade), testes bioquímicos e sequenciamento são necessários para diferenciar *E. faecalis*, *E. faecium* e outras espécies de enterococos, mas esse assunto está além do escopo deste livro.



Caso Clínico 19-4 Endocardite por Enterococo

Zimmer et al. (*Clin Infect Dis* 37:e29–e30, 2003) descreveram a epidemiologia das infecções enterocócias e as dificuldades no tratamento de pacientes com endocardite. Paciente de 40 anos, sexo masculino, com hepatite C, hipertensão e estágio final de doença renal, desenvolveu febre e calafrios durante hemodiálise. Nos 2 meses anteriores a esse episódio, o paciente havia usado ampicilina, levofloxacina e gentamicina para tratar uma endocardite por estreptococo do grupo B. Nas culturas coletadas durante a hemodiálise, cresceu *Enterococcus faecalis* resistente à levofloxacina e gentamicina. Como o paciente era alérgico à ampicilina, foi tratado com linezolida. O exame ecocardiográfico mostrou vegetações nas válvulas mitral e tricúspide. Durante o período de 3 semanas, o débito cardíaco piorou; o paciente apresentou resistência à ampicilina, e o tratamento foi trocado para ampicilina e estreptomicina. Após 25 dias de hospitalização, as válvulas cardíacas danificadas foram substituídas, e a terapia antibiótica foi estendida por mais 6 semanas. O uso de antibióticos de amplo espectro predispôs esse paciente, já com dano nas válvulas cardíacas, à endocardite por *Enterococcus*, e o tratamento foi complicado pela resistência do isolado a muitos antibióticos normalmente utilizados.

Tratamento, Prevenção e Controle

A terapia antimicrobiana de infecções enterocócicas é complicada, dado que a maioria dos antibióticos não é bactericida em concentrações clinicamente relevantes. O tratamento tradicional de infecções graves é baseado na **combinação de um aminoglicosídeo e um antibiótico ativo contra a parede celular** (p.ex., ampicilina e vancomicina). Entretanto, alguns antibióticos não apresentam atividade sobre a parede de enterococos (p.ex., oxacilina e cefalosporinas); ampicilina e penicilina em geral são ineficazes contra *E. faecium*, e resistência à vancomicina é frequente (sobretudo em *E. faecium*). Além disso, mais de 25% dos enterococos são resistentes aos aminoglicosídeos, e a resistência aos aminoglicosídeos e à vancomicina é um problema por ser mediada por plasmídeos, podendo ser transferida a outras bactérias.

Novos antibióticos têm sido desenvolvidos para tratar enterococos resistentes a ampicilina, vancomicina e aminoglicosídeos, como linezolida, daptomicina, tigeciclina e quinupristin/dalfopristin. Infelizmente, a resistência à linezolida tem aumentado, e quinupristin/dalfopristin não são ativos contra *E. faecalis* (a espécie mais frequentemente isolada). Enterococos sensíveis à ampicilina e resistentes aos aminoglicosídeos podem ser tratados com a associação de ampicilina com daptomicina, imipenem ou linezolida. Enterococos resistentes à ampicilina e sensíveis aos aminoglicosídeos podem ser tratados com aminoglicosídeos combinados com vancomicina (caso ativa), linezolida e daptomicina. Quando o isolado for resistente à ampicilina e aos aminoglicosídeos, o tratamento pode incluir daptomicina, linezolida ou vancomicina associado a outro agente ativo.

É difícil prevenir e controlar as infecções enterocócicas. Restrição de uso de antibióticos e aplicação de práticas apropriadas de controle de infecção (p.ex., isolamento do paciente infectado, uso de luvas e jaleco por qualquer pessoa que tenha contato com ele) podem reduzir o risco de colonização, mas a eliminação completa de infecções é incomum. Adicionalmente, é extremamente difícil erradicar uma cepa de uma estirpe resistente à vancomicina de *E. faecium* e *E. faecalis*, uma vez que um paciente seja colonizado.

Referências Bibliográficas

Arias C, Contreras G, Murray B. Management of multidrug-resistant enterococcal infections. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:555–562. Centers for Disease Control and Prevention Prevention of perinatal group B streptococcal disease. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010;59(RR–10):1–32.

Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. Microbiol. 2009;155:1749–1757.

Harboe ZB, Thomsen RW, Riis A, et al. Pneumococcal serotypes and mortality following invasive pneumococcal disease: a population-based cohort study. *PLoS Med.* 2009;6:e1000081.

Hegstad K, Mikalsen T, Coque TM, et al. Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:541–554.

Johansson L, Thulin P, Low DE, et al. Getting under the skin: the immunopathogenesis of *Streptococcus pyogenes* deep tissue infections. *Clin Infect Dis*. 2010;51:58–65.

Johnson DR, Kurlan R, Leckman J, et al. The human immune response to streptococcal extracellular antigens: clinical, diagnostic, and potential pathogenetic implications. *Clin Infect Dis.* 2010;50:481–490.

Kanjanabuch T, Kittikowit W, Eiam-Ong S. An update on acute postinfectious glomerulonephritis worldwide. *Nat Rev Nephrol*. 2009;5:259–269.

Krzysciak W, Pluskwa KK, Jurczak A, et al. The pathogenicity of the *Streptococcus* genus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32:1361–1376. Le Doare K, Heath PT. An overview of global GBS epidemiology. *Vaccine*. 2013;31(Suppl 4):D7–D12.

Mitchell A, Mitchell T. Streptococcus pneumoniae: virulence factors and variation. Clin Microbiol Infect. 2010;16:411–418.

Sava IG, Heikens E, Huebner J. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. Clin Microbiol Infect. 2010;16:533-540.

Walker MJ, Barnett TC, McArthur JD, et al. Disease manifestations and pathogenic mechanisms of group A *Streptococcus*. Clin Microbiol Rev. 2014;27:264–301.

Wessels M. Streptococcal pharyngitis. N Engl J Med. 2011;364:648–655.

Wyres KL, Lambertsen LM, Croucher NJ, et al. Pneumococcal capsular switching: a historical perspective. J Infect Dis. 2013;207:439–449.

CAPÍTULO 20

Bacillus

Duas horas depois de um jantar, uma família de quatro pessoas desenvolveu cólicas abdominais agudas, com náuseas e vômitos. Os sintomas duraram menos de 1 dia.

- 1. *Bacillus cereus* está associado a duas formas de intoxicação alimentar. Discuta a epidemiologia e apresentação clínica de cada uma.
- 2. *B. cereus* também está relacionado com infecções oculares. Discuta a epidemiologia e apresentação clínica. Qual fator de virulência é importante nessas infecções?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Bacillus anthracis

Palavras-gatilho

Formador de esporos, cápsula, toxina de edema, toxina letal, antraz, bioterrorismo

Biologia e Virulência

- Formador de esporo, imóvel, bacilo Gram-positivo não hemolítico
- Cápsula polipeptídica constituída de ácido poli-D-glutâmico, observada em materiais clínicos
- Cepas virulentas produzem três exotoxinas que se combinam para formar a toxina de edema (combinação do antígeno protetor e o fator de edema) e a toxina letal (combinação do antígeno protetor e o fator letal)
- A cápsula de polipeptídeo inibe a fagocitose de bactérias

Epidemiologia

- B. anthracis infecta primariamente herbívoros, sendo o homem um hospedeiro acidental
- Raramente isolado em países desenvolvidos, porém é prevalente em áreas empobrecidas onde a vacinação animal não é praticada
- O maior risco de antraz em países industrializados se deve ao uso do B. anthracis como agente de bioterrorismo

Doenças

• Três formas de antraz são reconhecidas: cutânea (mais comum nos humanos), gastrointestinal (mais comum em herbívoros) e inalação (bioterrorismo)

Diagnóstico

- Micro-organismo presente em altas concentrações nos materiais clínicos (microscopia tipicamente positiva) e rápido crescimento em cultura
- A identificação preliminar é realizada com base na microscopia (bacilos Gram-positivos imóveis) e na morfologia colonial (colônias aderentes não hemolíticas); confirmada pela demonstração da cápsula, tanto pela lise produzida por fago gama, por teste direto com anticorpo fluorescente positivo para o polissacarídeo específico da parede celular, quanto por testes moleculares positivos para amplificação de ácidos nucleicos

Tratamento, Prevenção e Controle

- Antraz inalado, gastrointestinal ou associado ao bioterrorismo deve ser tratado com ciprofloxacina ou doxiciclina, combinadas com um ou dois antibióticos adicionais (p.ex., rifampicina, vancomicina, penicilina, imipenem, clindamicina, claritromicina)
- Antraz cutâneo adquirido naturalmente pode ser tratado com amoxicilina
- Vacinação de rebanhos e de pessoas em áreas endêmicas pode controlar a doença, mas os esporos dificilmente são eliminados do solo contaminado
- A vacinação de rebanhos e pessoas em risco é eficaz, embora o desenvolvimento de uma vacina menos tóxica seja desejável
- Tratamentos alternativos que interferem na atividade das toxinas estão sendo investigados

Bacillus cereus

Palavras-gatilho

Formador de esporos, enterotoxina, gastroenterite, infecções oculares

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-positivos móveis e formadores de esporos
- Produzem enterotoxinas termoestáveis e termolábeis
- Destruição tecidual mediada por enzimas citotóxicas, incluindo cereolisinas e fosfolipase C

Epidemiologia

- Ubiquitários no solo no mundo inteiro
- Grupos de risco incluem pessoas que consomem alimentos contaminados com a bactéria (p.ex., arroz, carne, vegetais e molhos), que sofreram lesões traumáticas penetrantes (p.ex., nos olhos), que receberam injeções intravenosas, e pacientes imunocomprometidos expostos ao *B. cereus*

Doenças

 Capazes de causar doenças gastrointestinais (formas eméticas e diarreicas), infecções oculares e uma doença semelhante ao antraz em pacientes imunocompetentes

Diagnóstico

• Isolamento do micro-organismo nos produtos alimentares implicados ou em materiais não fecais (p.ex., olhos, ferida)

Tratamento, Prevenção e Controle

- Infecções gastrointestinais são tratadas sintomaticamente
- Infecções oculares ou outras doenças invasivas necessitam de remoção dos corpos estranhos e tratamento com vancomicina, clindamicina, ciprofloxacina ou gentamicina
- Doença gastrointestinal é prevenida pelo preparo adequado dos alimentos (p.ex., os alimentos devem ser consumidos imediatamente após o preparo ou refrigerados)

A família *Bacillaceae* consiste em um conjunto diversificado de mais de 50 gêneros que compartilham uma característica comum: a capacidade de formar endósporos (Fig. 20-1). Para fins práticos, os alunos precisam conhecer somente um gênero clinicamente importante — *Bacillus* —, e, embora haja quase 300 espécies neste gênero, apenas duas serão abordadas neste capítulo: *Bacillus anthracis* e *Bacillus cereus* (Tabela 20-1). *Bacillus anthracis*, o micro-organismo responsável pelo antraz, é considerado um dos agentes mais temidos em ações de bioterrorismo, e desde o envio de esporos de *B. anthracis* pelo serviço postal dos Estados Unidos em 2001, o dano potencial associado a esse micro-organismo é bem conhecido. *Bacillus cereus*, a outra espécie clinicamente importante desse gênero, é responsável por gastroenterites, infecções oculares traumáticas, sepse associada a cateteres e, mais raramente, pneumonia grave.

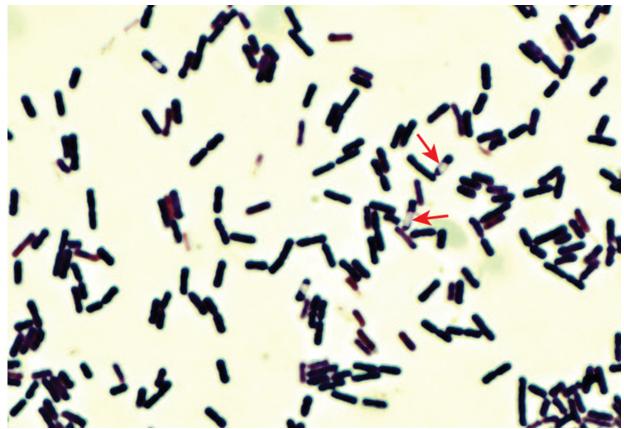


FIGURA 20-1 Bacillus cereus. As áreas claras nos bacilos Gram-positivos são os esporos não corados (setas).



Tabela 20-1

Principais Espécies de Bacillus

Micro-organismo	Origem Histórica
Bacillus	bacillum, um bacilo pequeno
B. anthracis	antraz, "carvão", um carbúnculo (referente à coloração preta de uma ferida necrosada associada ao antraz cutâneo)
B. cereus	cereus, ceroso, cor de cera (referente a colônias com superfície de vidro moído ou fosco)

Bacillus anthracis

Fisiologia e Estrutura

B.~anthracis é um micro-organismo grande (1 × 3 a 8 μ m), arranjado como bacilo isolado ou aos pares (Fig. 20-2), ou ainda como longas cadeias serpentiformes. Embora os esporos sejam facilmente observados em culturas de 2 a 3 dias, eles não são vistos em amostras clínicas.

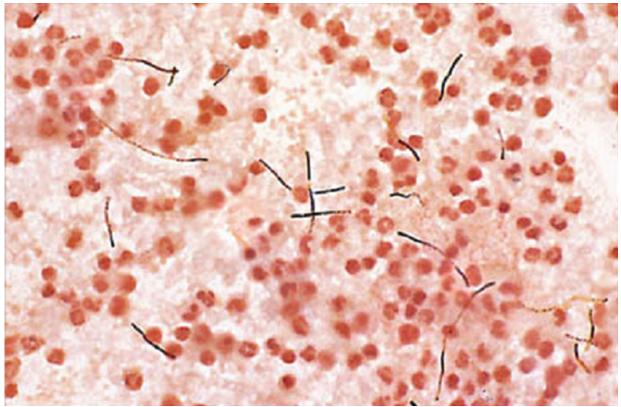


FIGURA 20-2 Bacillus anthracis no sangue de um paciente que inalou o antraz.

Devido à singular importância médica do B. anthracis, é importante conhecer os detalhes funcionais das toxinas produzidas por esse micro-organismo. Uma cepa virulenta de B. anthracis carreia genes para três componentes proteicos toxigênicos em um plasmídio grande, o pXO1. As proteínas que compreendem o antígeno protetor (PA), fator de edema (EF) e fator letal (LF), são atóxicas individualmente, mas formam importantes toxinas quando combinadas: o PA combinado com o EF forma a toxina de edema, e quando combinado com o LF forma a toxina letal. O PA é uma proteína de 83 kDa que se liga a um ou dois receptores da superfície das células hospedeiras, que estão presentes em muitas células e tecidos (p.ex., cérebro, coração, intestino, pulmão, músculo esquelético, pâncreas, macrófagos). Após o PA ligar-se ao seu receptor, as proteases da célula hospedeira clivam o PA, liberando um pequeno fragmento e retendo um fragmento de 63 kDa (PA₆₃) na superfície celular. Os fragmentos de PA₆₃ associados à superfície celular formam um complexo em forma de anel de sete fragmentos (poro precursor ou "pré-poro"). Esse complexo heptamérico pode então se ligar com até três moléculas de LF e/ou EF. Ambos os fatores reconhecem o mesmo ponto de ligação do PA₆₃; logo, a ligação é considerada competitiva. A formação do complexo estimula a endocitose e o movimento em direção a um compartimento acídico. Neste ambiente, o complexo heptamérico forma um poro transmembrana que libera LF e EF no interior da célula. LF é uma protease zinco-dependente que é capaz de clivar uma proteína quinase mitógeno-ativada (MAP), levando à morte celular. EF é uma adenilato ciclase calmodulina-dependente que aumenta os níveis intracelulares de monofosfato de adenosina cíclico (AMP_c), resultando em edema. A proteína EF está relacionada com as adenilato ciclases produzidas por Bordetella pertussis e Pseudomonas aeruginosa.

O outro fator importante de virulência de *B. anthracis* é uma **cápsula** polipeptídica proeminente (que consiste em poli-D-ácido glutâmico). A cápsula é observada em amostras clínicas, não sendo produzida *in vitro*, a menos que sejam utilizadas condições especiais de crescimento. Três genes (*capA*, *capB* e *capC*) são responsáveis pela síntese dessa cápsula e são carreados por um segundo plasmídeo (pXO2). Apenas um sorotipo foi identificado, presumivelmente pelo fato de a cápsula ser composta só de ácido glutâmico.

Patogênese e Imunidade

Os principais fatores responsáveis pela virulência de B. anthracis são a presença da cápsula, a toxina de edema e a toxina letal. A cápsula inibe a fagocitose das células em replicação. A atividade adenilato ciclase da toxina de edema é responsável pelo acúmulo de fluidos observado no antraz. A atividade zinco metaloprotease da toxina letal estimula a liberação do fator de necrose tumoral (TNF)- α pelos macrófagos, liberação de interleucina (IL)-1 β e outras citocinas pró-inflamatórias. Essa toxina também é responsável pela lise de macrófagos em cultura de células selecionadas. Das principais proteínas do B. anthracis, a PA é a mais imunogênica (daí seu nome, antígeno protetor). Ambas, LF e EF, inibem o sistema imune inato do hospedeiro.

Epidemiologia

Antraz é basicamente uma doença de herbívoros; os seres humanos são infectados pela exposição a animais ou a produtos contaminados. A doença é um problema sério em países onde a vacinação dos animais não é praticada ou não é possível (p.ex., doença estabelecida na vida selvagem africana). Por outro lado, infecções naturais pelo *B. anthracis* raramente são observadas nos Estados Unidos, e apenas cinco casos foram notificados entre 1981 e 1999. Atualmente, essa estatística ficou sem sentido, devido à ocorrência de contaminação deliberada pelo serviço postal americano com esporos de *B. anthracis*, ocorrida em 2001. O risco de exposição de grandes populações a patógenos perigosos tem aumentado drasticamente nesta era de bioterrorismo. Várias nações e grupos terroristas independentes têm programas de guerra biológica e têm experimentado o uso de *B. anthracis* como arma. Na verdade, muito do que sabemos sobre a transmissão do antraz por via inalatória foi devido à exposição acidental de esporos desse micro-organismo na cidade de Sverdlovsk, antiga União Soviética (pelo menos 79 casos de antraz, com 68 mortes), em 1979, e também pelo ato terrorista que provocou a contaminação de empregados do serviço postal americano com cartas contendo *B. anthracis* (11 pacientes com antraz adquirido por inalação e 11 com antraz cutâneo).

A doença humana (Quadro 20-1) causada por *B. anthracis* é adquirida por uma das três vias: **inoculação**, **ingestão** e **inalação**. Aproximadamente 95% das infecções humanas por antraz adquiridas de forma natural em humanos resultam da inoculação dos esporos de *Bacillus* através da pele exposta, pelo solo contaminado ou por produtos animais infectados, como peles, pelos de cabra e lã.



Quadro 20-1 Doenças Causadas por Bacillus: Resumo Clínico

Bacillus anthracis

Antraz cutâneo: pápula indolor que progride para ulceração com vesículas ao redor, seguida de formação de escaras; podem se desenvolver linfadenopatia dolorosa, edema e sinais sistêmicos

Antraz gastrointestinal: formação de úlcera no local da invasão (p.ex., boca, esôfago, intestino), levando a linfadenopatia regional, edema e sepse

Antraz inalado: sinais iniciais são inespecíficos, seguidos de uma sepse súbita acompanhada de febre, edema e linfadenopatia (nódulos linfáticos mediastinais); sintomas meníngeos acometem metade dos pacientes, e a maioria evolui a óbito, a menos que o tratamento seja iniciado imediatamente

Bacillus cereus

Gastroenterite: forma emética caracterizada pelo rápido surgimento de episódios de vômitos e dor abdominal, sendo, no entanto, de curta duração; forma diarreica caracterizada por uma duração mais prolongada, acompanhada de diarreia e cólicas abdominais

Infecções oculares: destruição rápida e progressiva do olho, após introdução traumática da bactéria **Doença pulmonar grave:** doença pulmonar grave, semelhante à do antraz, em pacientes imunocompetentes

A ingestão de antraz é muito rara nos seres humanos, mas constitui uma via comum de infecção nos herbívoros. Em função de esse micro-organismo formar esporos de resistência, o solo contaminado ou produtos de origem animal podem permanecer infectados por muitos anos.

A inalação de antraz foi historicamente denominada **doença dos separadores de lã**, porque a maioria das infecções resultava da inalação de esporos de *B. anthracis* durante o processamento do pelo de cabra. Atualmente, essa é uma fonte incomum de infecção para os seres humanos; no entanto, a inalação é a via mais provável de infecção com armas biológicas, e acredita-se que a dose infectante do micro-organismo seja baixa. A transmissão pessoa a pessoa não ocorre, pois o crescimento bacteriano se dá nos linfonodos do mediastino, mais que na árvore broncopulmomar.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 20-1)

Em geral, o **antraz cutâneo** inicia com o desenvolvimento de uma pápula indolor, no local da inoculação, que rapidamente progride para uma úlcera circundada por vesículas e, a seguir, para uma escara necrótica (Fig. 20-3).Podem ocorrer sinais sistêmicos, linfadenopatia dolorosa e edema maciço. A taxa de mortalidade em pacientes com antraz cutâneo não tratado é de 20%.

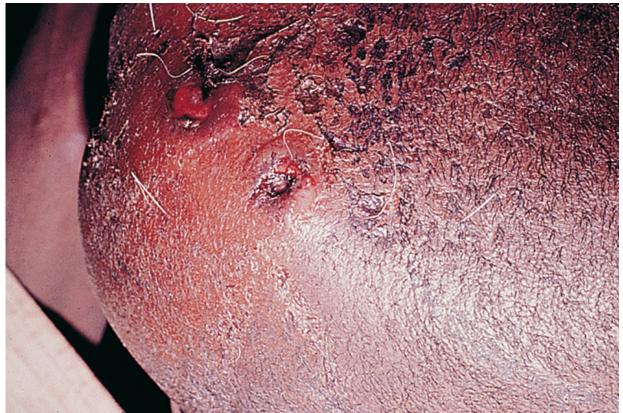


FIGURA 20-3 Antraz cutâneo demonstrando forte eritema, edema e ruptura das vesículas. (De Cohen J, Powderly WG: Infectious diseases, ed 2, St Louis, 2004, Mosby.)



Caso Clínico 20-1 Inalação de Antraz

Bush et al. (*N Engl J Med* 345:1607–1610, 2001) reportaram o primeiro caso de inalação de antraz no ataque bioterrorista de 2001 nos Estados Unidos. O paciente era um homem de 63 anos que morava na Flórida e apresentou um histórico de 4 dias de febre, mialgias e mal-estar sem sintomas localizados. Sua esposa o levou para o hospital regional, porque ele acordou com febre, vômitos e apresentando confusão mental. No exame físico, a temperatura foi de 39°C, pressão arterial de 150/80 mmHg, pulso de 110 batimentos/min e uma frequência respiratória de 18 respirações/min. Nenhuma disfunção respiratória foi observada. O tratamento foi iniciado presumindo-se uma meningite bacteriana. Na radiografia inicial de tórax foram observados infiltrados basilares e um mediastino aumentado. Coloração de Gram do líquido cefalorraquidiano (LCR) revelou muitos neutrófilos e grandes bacilos Gram-positivos. Após a suspeita de antraz, foi iniciado tratamento com penicilina. Dentro de 24 horas de internação, culturas de LCR e de sangue foram positivas para *Bacillus anthracis*. Durante o primeiro dia de internação, o paciente teve uma crise epiléptica e foi entubado. No segundo dia de hospitalização, desenvolveu hipotensão e azotemia, seguidas de falha renal. No terceiro dia de internação, desenvolveu hipotensão refratária e teve uma parada cardíaca fatal. Esse paciente ilustra a rapidez do quadro degenerativo apresentado por pacientes que inalam antraz, mesmo com um diagnóstico rápido e um tratamento antimicrobiano adequado. Embora a via de exposição seja através do trato respiratório, os pacientes não desenvolvem pneumonia; a radiografia de tórax anormal é causada pela mediastinite hemorrágica.

Os sintomas clínicos do **antraz gastrointestinal** são determinados pelo local de infecção. Se o micro-organismo invade o trato intestinal superior, formam-se úlceras na boca ou esôfago, levando a linfadenopatia regional, edema e sepse. Se o micro-organismo invade o ceco ou o íleo terminal, o paciente apresenta náusea, vômito e sensação de mal-estar geral, que rapidamente progride para doença sistêmica. A mortalidade associada ao antraz gastrointestinal é em torno de 100%.

Diferentemente das outras duas formas descritas, a **inalação de antraz** pode estar associada a um período longo de latência (2 meses ou mais), durante o qual o paciente infectado permanece assintomático. Os esporos podem permanecer latentes nas fossas nasais ou atingir as vias aéreas inferiores, onde macrófagos alveolares fagocitam os esporos inalados e os transportam para os nódulos linfáticos no mediastino. Os sintomas clínicos iniciais da doença são inespecíficos — febre, mialgias, tosse seca e mal-estar geral. O segundo estágio da doença é mais dramático, com rápido agravamento da febre, edema, aumento expressivo dos linfonodos do mediastino (responsável pelo aumento do mediastino observado na radiografia de tórax [Fig. 20-4]), insuficiência respiratória e sepse. Embora a rota de infecção seja por inalação, é raro o paciente desenvolver pneumonia. Sintomas meníngeos são observados em metade dos pacientes com antraz por inalação. Quase todos os casos evoluem para choque seguido de morte 3 dias após o aparecimento dos sintomas, a menos que haja suspeita da doença e o tratamento seja iniciado imediatamente. Evidências sorológicas têm indicado a ausência de

uma forma subclínica ou assintomática de antraz por inalação. Praticamente todos os pacientes que desenvolvem a doença evoluem para a morte, exceto se houver uma intervenção médica imediata.

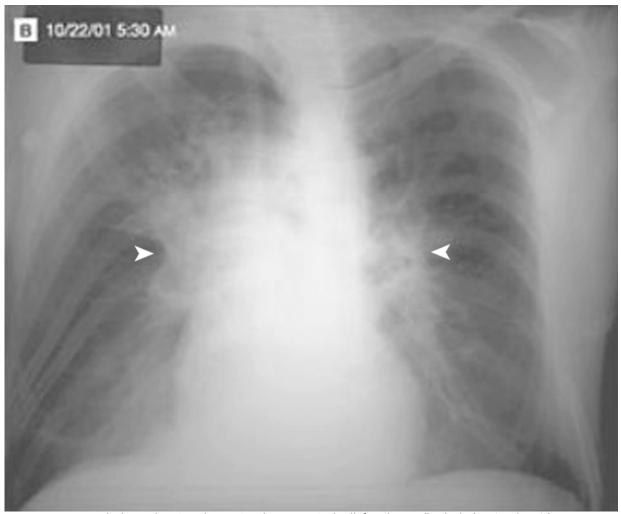


FIGURA 20-4 Inalação de antraz demonstrando o aumento dos linfonodos mediastinais (pontas de seta).

Diagnóstico Laboratorial

As infecções causadas por B. anthracis são caracterizadas pela presença de grande número de micro-organismos nas feridas, nódulos linfáticos envolvidos e sangue. O antraz é uma das poucas doenças bacterianas cujo micro-organismo pode ser visto quando o sangue periférico é corado pelo método de Gram (Fig. 20-2). Desse modo, a detecção do micro-organismo por microscopia e cultura não é um problema. A dificuldade do diagnóstico laboratorial está em distinguir B. anthracis de outros membros do grupo taxonomicamente relacionado B. cereus. A identificação preliminar de B. anthracis está baseada na microscopia e na morfologia colonial. Esses micro-organismos apresentam-se como bacilos Gram-positivos, longos e finos, isolados ou arranjados em longas cadeias. Os esporos não são observados nos materiais clínicos, mas sim nos cultivos incubados em atmosfera com baixa tensão de dióxido de carbono (CO₂) e podem ser mais bem observados utilizando-se uma coloração especial para esporos (p.ex., coloração verde- malaquita; Fig. 20-5). A cápsula de B. anthracis é produzida in vivo, mas não é comumente observada na cultura. A cápsula pode ser observada utilizando-se uma coloração de contraste, como a tinta da China (as partículas de nanquim são excluídas pela cápsula, de modo que o fundo, mas não a área ao redor da bactéria, aparece escuro), coloração de azul de metileno de M'Fadyean ou um teste de imunofluorescência direta (IFD) desenvolvido contra o polipeptídeo capsular. As colônias cultivadas em ágar-sangue de carneiro são caracteristicamente grandes e não pigmentadas, e apresentam uma superfície seca rugosa, semelhante a vidro moído, de bordas irregulares. As colônias são bastante viscosas e aderentes ao ágar, e quando são removidas com alça bacteriológica, permanecem firmes como claras de ovo batidas. Em contraste ao B. cereus, as colônias não são hemolíticas. B. anthracis aparecerá imóvel em preparação de gota pendente do meio de cultura. A identificação definitiva de B. anthracis imóveis e não hemolíticos deve ser feita em um laboratório de referência de saúde pública. A identificação também inclui a demonstração de produção da cápsula (por microscopia ou IFD) e a demonstração de um polissacarídeo específico da parede celular de B. anthracis, através de lise bacteriana por fagos gama ou teste positivo por IFD. Além disso, testes de amplificação de ácido nucleico (p.ex., reação em cadeia da polimerase [PCR]) têm sido desenvolvidos e são realizados em laboratórios de referência. Os testes de PCR também estão disponíveis comercialmente.

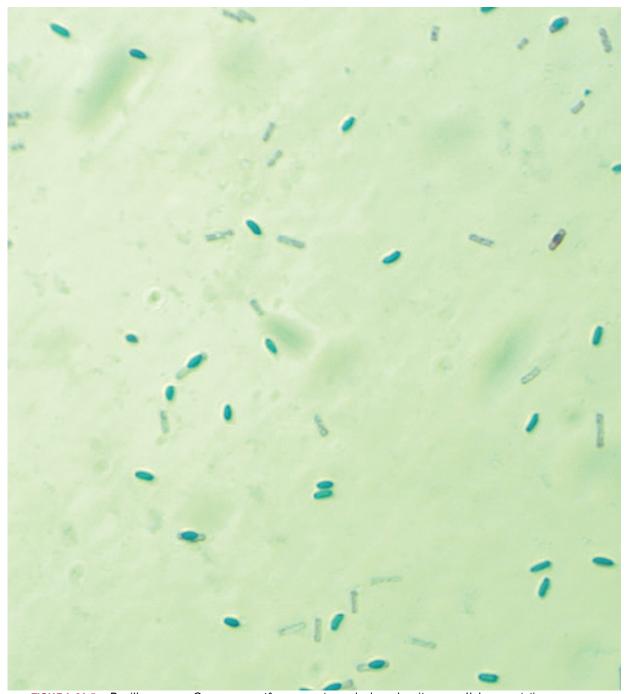


FIGURA 20-5 Bacillus cereus. Os esporos retêm o corante verde de malaquita e as células vegetativas permanecem cinza ou descoradas.

Tratamento, Prevenção e Controle

Embora a penicilina tenha sido o fármaco terapia de escolha para *B. anthracis*, resistência a esse antibiótico tem sido observada em cepas que ocorrem naturalmente, bem como resistência às sulfonamidas e cefalosporinas de amplo espectro. Além disso, a resistência a outros antibióticos pode ser selecionada em cepas de laboratório, de modo que esse fator deve ser considerado no tratamento de antraz associado ao bioterrorismo. O tratamento empírico atualmente recomendado é o uso de **doxiciclina** ou **ciprofloxacina** combinado com um ou dois antibióticos adicionais (p.ex., rifampicina, vancomicina, penicilina, imipenem, clindamicina, claritromicina). Embora a resistência à penicilina seja observada em cepas de antraz adquiridas naturalmente, a penicilina oral (**amoxicilina**) ainda é recomendada para antraz cutâneo adquirido dessa forma.

O controle da doença humana naturalmente adquirida requer o controle da doença animal, que envolve a **vacinação do rebanho** em regiões endêmicas e a cremação ou sepultamento de animais que morrem de antraz. A completa erradicação do antraz é improvável, porque os esporos podem sobreviver por muitos anos no solo. Além disso, é também improvável erradicar completamente infecções por esse micro-organismo tendo em vista a ameaça relacionada com o bioterrorismo, comum nos dias de hoje.

A vacinação também tem sido utilizada para proteger: (1) pessoas que vivem em regiões onde a doença é endêmica, (2) pessoas que trabalham com produtos animais importados de países com antraz endêmico e (3) militares. Embora a vacina pareça ser eficiente, pesquisas têm sido desenvolvidas no intuito de torná-la menos tóxica. Abordagens alternativas com o intuito de inativar a toxina do antraz têm sido dirigidas ao PA e seus receptores-alvo. Uma infusão passiva de anticorpos

monoclonais humanos PA de *B. anthracis* preveniu a morte em um modelo animal de inalação de antraz e foi bem tolerada em voluntários humanos. Complexos peptídicos sintéticos que têm por alvo os receptores da superfície celular para PA também têm sido utilizados para neutralizar a toxina do antraz em modelos animais. Porém, ainda precisa ser elucidado como essas abordagens alternativas podem ser usadas no tratamento da doença humana.

Bacillus cereus

Outras espécies de *Bacillus* que não *B. anthracis* são sobretudo patógenos oportunistas com capacidade relativamente baixa de virulência. Embora a maioria dessas espécies seja responsável por doenças, *B. cereus*, é claramente o patógeno mais importante, sendo gastroenterites, infecções oculares e sepse relacionada com o uso de cateteres intravenosos as infecções mais comumente observadas, bem como raros casos de pneumonia grave.

Patogênese e Imunidade

A gastroenterite causada por *B. cereus* é mediada por uma das **duas enterotoxinas** produzidas pelo micro-organismo (Tabela 20-2). A enterotoxina **termoestável**, resistente à proteólise, é responsável pela **forma emética** da doença, e a enterotoxina **termolábil** é responsável pela **forma diarreica** da doença. A enterotoxina termolábil é similar às enterotoxinas produzidas por *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae*; estimulando o sistema adenilato ciclase monofosfato de adenosina cíclico nas células epiteliais intestinais, levando a uma intensa diarreia aquosa. O mecanismo de ação da enterotoxina termoestável ainda não está totalmente elucidado.



Tabela 20-2

Intoxicação Alimentar por Bacillus cereus

	Forma Emética	Forma Diarreica
Alimento	Arroz	Carne, vegetais
Período de incubação (horas)	< 6 (média, 2)	> 6 (média, 9)
Sintomas	Vômito, náuseas, cólicas abdominais	Diarreia, náuseas, cólicas abdominais
Duração (horas)	8–10 (média, 9)	20–36 (média, 24)
Enterotoxina	Termoestável	Termolábil

A patogênese das infecções oculares causadas por *B. cereus* não está totalmente definida. Pelo menos três toxinas têm sido implicadas: a **toxina necrótica** (uma enterotoxina termolábil), a **cereolisina** (uma potente hemolisina cujo nome se deve à espécie *B. cereus*) e a **fosfolipase C** (uma potente lecitinase). Acredita-se que a rápida destruição do olho, característica das infecções por *B. cereus*, resulte da interação dessas toxinas e de outros fatores não identificados.

As espécies de *Bacillus* podem colonizar a pele transitoriamente e ser isoladas de hemocultura como contaminante sem significado clínico. Entretanto, na presença de um corpo estranho intravascular, esses micro-organismos podem ser responsáveis por bacteremias persistentes e sinais de sepse (i.e., febre, calafrios, hipotensão e choque).

Epidemiologia

B. cereus e outras espécies de *Bacillus* são micro-organismos ubiquitários, presentes em virtualmente todos os ambientes. Quase todas as infecções originam-se de uma fonte ambiental (p.ex., solo contaminado). O isolamento de bactérias de amostras clínicas na ausência de doença característica em geral representa uma contaminação insignificante.

Doenças Clínicas

Como mencionado, *B. cereus* é responsável por duas formas de intoxicação alimentar: a **doença com vômito (forma emética)** e a **doença diarreica (forma diarreica)**. Em muitos pacientes, a forma emética da doença resulta do consumo de **arroz contaminado**. A maioria dos bacilos é destruída durante o cozimento inicial do arroz, entretanto os esporos resistentes ao calor sobrevivem. Se o arroz cozido não for refrigerado, os esporos germinam e as bactérias podem multiplicar-se rapidamente. A enterotoxina termoestável liberada não é destruída quando o arroz é reaquecido. A forma emética da doença é uma intoxicação causada pela ingestão da enterotoxina, não pela bactéria. Desse modo, o período de incubação após a ingestão do arroz contaminado é curto (1 a 6 horas), assim como a duração da doença (< 24 horas). Os sintomas consistem em vômitos, náuseas e cólicas abdominais. Febre e diarreia normalmente estão ausentes. Disfunção hepática fulminante tem sido associada ao consumo de alimentos contaminados com grandes quantidades de toxina emética, que é responsável por danos no metabolismo do ácido graxo mitocondrial. Felizmente, essa complicação é rara.

A forma diarreica de intoxicação alimentar por *B. cereus* é uma infecção que resulta do consumo de carne, vegetais ou molhos contaminados. O período de incubação é mais prolongado, durante o qual o bacilo se multiplica no trato intestinal

do paciente e libera a enterotoxina termolábil. Essa enterotoxina é responsável pelo aparecimento de diarreia, náuseas e cólicas abdomonais. Em geral, essa forma da doença dura 1 dia ou mais.

As **infecções oculares** causadas por *B. cereus* normalmente ocorrem após lesões traumáticas, por intermédio de um objeto contaminado com solo que penetra nos olhos (Caso Clínico 20-2). A panoftalmite por *Bacillus* é uma doença de progressão rápida que quase sempre resulta na perda completa do olho, dentro de 48 horas após a lesão. Infecções disseminadas com manifestações oculares também podem se desenvolver em usuários de drogas intravenosas.



Caso Clínico 20-2 Endoftalmite Traumática por Bacillus cereus

Infelizmente, a endoftalmite causada pela introdução traumática de *Bacillus cereus* no olho não é rara. Essa é uma apresentação típica. Um homem de 44 anos sofreu uma lesão traumática no olho enquanto trabalhava em uma horta, quando um pedaço de metal atingiu seu olho esquerdo, danificando a córnea e as câmaras anterior e posterior do olho. Durante as 12 horas subsequentes, aumentou a dor na região, com desenvolvimento de secreção purulenta nos olhos. Ele passou por uma cirurgia para aliviar a pressão ocular, drenar a secreção purulenta, e foi realizada administração intravítrea de antibióticos (vancomicina, ceftazidima) e dexametasona. A cultura do fluido aspirado foi positiva para *B. cereus*. Ciprofloxacina foi acrescentada ao esquema terapêutico no pós-operatório. Apesar das intervenções médica e cirúrgica imediatas, e posteriormente das injeções de antibiótico intravítreas, a inflamação intraocular persistiu e foi necessária a enucleação do globo ocular. Esse paciente ilustra os riscos envolvidos em casos de injúria ocular penetrante e a necessidade de uma intervenção imediata, para que o olho seja preservado.

Outras infecções comuns por *B. cereus* e outras espécies de *Bacillus* incluem infecções pelo uso de cateter intravenoso, infecções do sistema nervoso central e endocardite (mais comum em usuários de drogas), bem como pneumonite, bacteremia e meningite em pacientes gravemente imunossuprimidos. Também foi relatado que a ingestão de **chá** por pacientes imunocomprometidos está associada a um risco aumentado para doença invasiva causada por *B. cereus*.

Uma doença rara causada pelo *B. cereus* merece atenção especial — **pneumonia grave semelhante à do antraz em pacientes imunocompetentes.** Foram descritos na literatura quatro pacientes com essa doença, todos metalúrgicos residentes no Texas ou Louisiana. Interessantemente, as bactérias continham os **genes pXO1 da toxina de** *B. anthracis* e todas eram **encapsuladas**, porém as cápsulas não eram constituídas de poli-γ- d-ácido glutâmico, característico do bacilo antraz. Essas amostras demonstraram risco potencial e uma facilidade presumível de transferência de genes de virulência de *B. anthracis* para amostras de *B. cereus* ubiquitário.

Diagnóstico Laboratorial

Similarmente ao *B. anthracis*, o *B. cereus* e outras espécies de *Bacillus* podem ser rapidamente cultivados no laboratório a partir de materiais clínicos, coletados de pacientes com a forma emética de intoxicação alimentar. Como os indivíduos podem estar transitoriamente colonizados com *B. cereus*, o alimento suspeito (p.ex., arroz, carne e vegetais) deve ser cultivado para confirmação de que a doença foi transmitida pelo alimento. Na prática, não são comumente realizados nem culturas nem testes para detectar as enterotoxinas termoestável e termolábil; assim, a maioria dos casos de gastroenterites por *B. cereus* é diagnosticada por critérios epidemiológicos. As espécies de *Bacillus* crescem rapidamente e são facilmente detectadas pela coloração de Gram e cultura de amostras obtidas de olhos infectados, pontos intravenosos e outros locais.

Tratamento, Prevenção e Controle

Devido à evolução curta e não complicada das gastroenterites causadas por *B. cereus*, o tratamento sintomático é adequado. O tratamento de outras infecções causadas por *Bacillus* pode ser complicado devido à evolução rápida e progressiva, bem como pela elevada incidência de resistência a múltiplos antimicrobianos (p.ex., *B. cereus* carreia genes de resistência às penicilinas e cefalosporinas). **Vancomicina, clindamicina, ciprofloxacina** e **gentamicina** podem ser usadas para tratar as infecções. Penicilina e cefalosporinas são ineficientes. Infecções oculares devem ser tratadas rapidamente. A intoxicação alimentar pode ser evitada por meio do consumo rápido do alimento após o cozimento e pela refrigeração adequada dos alimentos não consumidos.

Referências Bibliográficas

Avashia SB, Riggins WS, Lindley C, et al. Fatal pneumonia among metalworkers due to inhalation exposure to *Bacillus cereus* containing *Bacillus anthracis* toxin genes. *Clin Infect Dis.* 2007;44:414–416.

Baggett HC, Rhodes JC, Fridkin SK, et al. No evidence of a mild form of inhalational *Bacillus anthracis* infection during a bioterrorism-related inhalational anthrax outbreak in Washington, D.C., in 2001. *Clin Infect Dis*. 2005;41:991–997.

Basha S, Rai P, Poon V, et al. Polyvalent inhibitors of anthrax toxin that target host receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:13509–13513.

Bottone E. Bacillus cereus, a volatile human pathogen. Clin Microbiol Rev. 2010;23:382–398.

Collier RJ, Young JAT. Anthrax toxin. Annu Rev Cell Dev Biol. 2003;19:45-70.

Doganay M, Metan G, Alp E. A review of cutaneous anthrax and its outcome. J Infect Public Health. 2010;3:98–105.

- El Saleeby CM, Howard SC, Hayden RT, et al. Association between tea ingestion and invasive *Bacillus cereus* infection among children with cancer. *Clin Infect Dis*. 2004;39:1536–1539.
- Hoffmaster AR, Hill KK, Gee JE, et al. Characterization of *Bacillus cereus* isolates associated with fatal pneumonias: strains are closely related to *Bacillus anthracis* and harbor *B. anthracis* virulence genes. *J Clin Microbiol*. 2006;44:3352–3360.
- Krantz BA, Melnyk RA, Zhang S, et al. A phenylalanine clamp catalyzes protein translocation through the anthrax toxin pore. *Science*. 2005;309:777–781.
- Mahtab M, Leppla SH. The roles of anthrax toxin in pathogenesis. Curr Opin Microbiol. 2004;7:19-24.
- Melnyk RA, Hewitt KM, Lacy DB, et al. Structural determinants for the binding of anthrax lethal factor to oligomeric protective antigen. *J Biol Chem.* 2006;281:1630–1635.
- Pickering AK, Merkel TJ. Macrophages release tumor necrosis factor alpha and interleukin-12 in response to intracellular *Bacillus* anthracis spores. *Infect Immun*. 2004;72:3069–3072.
- Turnbull PC. Introduction: anthrax history, disease and ecology. Curr Top Microbiol Immunol. 2002;271:1-19.

Listeria e Bactérias Gram-positivas Relacionadas

Listeria monocytogenes, Erysipelothrix rhusiopathiae e Corynebacterium diphtheriae são três bacilos Gram-positivos clinicamente importantes, que produzem doenças bastante distintas.

- 1. Que populações de pacientes são mais suscetíveis a infecções causadas por *Listeria* e *Erysipelothrix* e como são adquiridas essas infecções?
- 2. O tratamento de infecções por Listeria é similar ao de que outro patógeno Gram-positivo?
- 3. Por que o diagnóstico laboratorial de infecções causadas por Erysipelothrix é difícil de ser realizado?
- 4. Por que a difteria não é encontrada nos Estados Unidos, mas ainda é encontrada em outros países?
- 5. Por que a coloração de Gram de um exsudato da orofaringe ou cultura de sangue não é útil para o diagnóstico de difteria? Em caso de suspeita de difteria, como seria feito o diagnóstico?
- 6. Qual é o fator de virulência responsável pelas manifestações clínicas da difteria?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Listeria monocytogenes

Palavras-gatilho

Cocobacilo, beta-hemolítico, meningite, oportunista

Biologia e Virulência

- Cocobacilos Gram-positivos, frequentemente dispostos em pares, assemelhando-se a Streptococcus pneumoniae
- Patógeno intracelular facultativo que consegue evitar a eliminação mediada por anticorpos
- Capacidade para crescer a 4°C, em uma ampla faixa de pH e na presença de sal pode resultar em altas concentrações de bactérias em alimentos contaminados
- Cepas virulentas produzem fatores de adesão celular (internalinas), hemolisinas (listeriolisina O e duas enzimas fosfolipase C) e uma proteína que medeia a mobilidade intracelular direcionada pela actina (ActA)

Epidemiologia

- Isolado no solo, na água, na vegetação e em uma variedade de animais, incluindo seres humanos (baixos níveis de contaminação no trato gastrointestinal)
- Doença associada ao consumo de produtos alimentares contaminados (p.ex., leite e queijos contaminados, carnes processadas, vegetais crus [especialmente repolho]) ou disseminação transplacentária da mãe para o recém-nascido; casos esporádicos e epidêmicos ocorrem ao longo do ano
- Recém-nascidos, idosos, gestantes e pacientes com defeitos na imunidade celular apresentam risco aumentado para a doença

Doenças

- A doença neonatal pode resultar em morte no útero ou abcessos multiorgânicos, meningite e septicemia
- Outras doenças incluem sintomas semelhantes à infecção por influenza, gastroenterite autolimitada e meningite, em pacientes com defeitos na imunidade mediada por células

Diagnóstico

- A microscopia não é sensível; a cultura pode requerer incubação por 2 a 3 dias ou enriquecimento a 4°C
- As propriedades características incluem mobilidade à temperatura ambiente, β -hemólise fraca, crescimento a 4°C e em altas concentrações de sal

Tratamento, Prevenção e Controle

- O tratamento de escolha para a doença grave é penicilina ou ampicilina, isoladas ou em combinação com gentamicina
- As pessoas com alto risco para a doença devem evitar a ingestão de alimentos de origem animal crus ou parcialmente cozidos, requeijões e vegetais crus não lavados

Erysipelothrix rhusiopathiae

Palavras-gatilho

Bacilo pleomórfico, zoonótico, infecção cutânea, endocardite

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-positivos, delgados, pleomórficos, que formam longos filamentos (p.ex., 60 μm)
- Acredita-se que a produção de neuraminidase seja importante para a adesão e a penetração nas células epiteliais, e que uma cápsula semelhante à polissacarídica proteja a bactéria da fagocitose

Epidemiologia

- Coloniza uma variedade de organismos, particularmente suínos e perus
- Encontrado no solo rico em matéria orgânica ou em água subterrânea contaminada com resíduos de animais colonizados
- Patógeno incomum nos Estados Unidos
- Doença ocupacional de açougueiros, processadores de carne, fazendeiros, criadores de aves, manipuladores de peixes e veterinários

Doenças

• As doenças mais comuns em humanos são (1) uma infecção cutânea localizada, (2) uma doença cutânea generalizada, ou (3) uma septicemia associada a endocardite subaguda envolvendo válvulas cardíacas previamente intactas

Diagnóstico

- Bacilos longos, filamentosos e Gram-positivos observados na coloração de Gram de biópsia coletada na borda avançada da lesão
- Crescem lentamente em ágar-sangue e ágar-chocolate, incubados em 5% a 10% de dióxido de carbono

Tratamento, Prevenção e Controle

- A penicilina é o fármaco de escolha, tanto para doenças localizadas quanto sistêmicas; ciprofloxacino ou clindamicina podem ser usados para infecções cutâneas localizadas em pacientes alérgicos à penicilina, e ceftriaxona ou imipenem podem ser considerados para infecções disseminadas
- Os trabalhadores devem cobrir as áreas expostas da pele quando manusearem animais e produtos animais
- Os rebanhos suínos devem ser vacinados

Corynebacterium diphtheriae

Palavras-gatilho

Toxina diftérica, faringite, cultura seletiva, vacina

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-positivos pleomórficos
- O principal fator de virulência é a toxina diftérica, uma exotoxina do tipo A-B; inibe a síntese proteica

Epidemiologia

- Distribuição mundial mantida em portadores assintomáticos e pacientes infectados
- O ser humano é o único reservatório conhecido, sendo portador na orofaringe ou na superfície da pele
- Disseminação pessoa a pessoa pela exposição a gotículas respiratórias ou contato com a pele
- Doença observada em crianças não vacinadas ou parcialmente imunizadas, ou em adultos que viajam para países onde a doença é endêmica
- A difteria é muito incomum nos Estados Unidos e em outros países com programas ativos de vacinação

Doenças

• Agente etiológico da difteria: formas respiratória e cutânea

Diagnóstico

- A microscopia é inespecífica; são observados grânulos metacromáticos em C. diphtheriae e em outras corinebactérias
- A cultura deve ser realizada em meios não seletivos (ágar-sangue) e seletivos (ágar cisteína-telurito, meio Tinsdale, ágar colistina-ácido nalidíxico)
- A identificação presumida de *C. diphtheriae* pode ser baseada na presença de cistinase e ausência de pirazinamidase; identificação definitiva por testes bioquímicos ou sequenciamento de genes espécie-específicos
- A demonstração da exotoxina é realizada pelo teste de Elek ou pelo ensaio da reação em cadeia da polimerase

Tratamento, Prevenção e Controle

- As infecções são tratadas com antitoxina diftérica para neutralizar a exotoxina; penicilina ou eritromicina para eliminar a *C. diphtheriae* e inibir a produção de toxina; e imunização dos pacientes convalescentes com toxoide diftérico para estimular os anticorpos protetores
- Administração da vacina diftérica e doses de reforço em populações suscetíveis

Os bacilos Gram-positivos aeróbios e não formadores de esporos constituem um grupo heterogêneo de bactérias. Alguns são patógenos humanos bem identificados (p.ex., Listeria monocytogenes, Corynebacterium diphtheriae); outros são primariamente patógenos animais que podem causar doença humana (p.ex., Erysipelothrix rhusiopathiae); e alguns são patógenos oportunistas que tipicamente infectam pacientes hospitalizados e imunocomprometidos (p.ex., Corynebacterium jeikeium [Fig. 21-1]). Embora a apresentação clínica das doenças possa ser característica, a detecção e a identificação dos organismos no laboratório podem ser problemáticas. Uma técnica útil para a identificação preliminar dessas bactérias envolve a sua morfologia microscópica. Os bacilos Gram-positivos que apresentam um formato uniforme incluem os Listeria e Erysipelothrix; os bacilos Gram-positivos de formato irregular normalmente são membros do gênero Corynebacterium ou gêneros estreitamente relacionados (Tabela 21-1). O foco deste capítulo são três espécies de bacilos Gram-positivos: Listeria monocytogenes, Erysipelothrix rhusiopathiae e Corynebacterium diphtheriae. As doenças causadas por estas e outras bactérias relacionadas estão sumarizadas na Tabela 21-2.

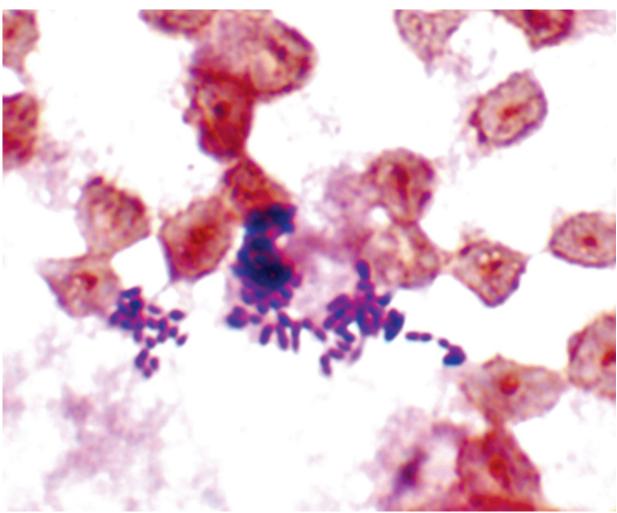


FIGURA 21-1 Coloração de Gram de *Corynebacterium jeikeium* a partir de uma hemocultura; pequenos cocobacilos indeterminados.



Listeria e Bactérias Relacionadas

Micro-organismo	Derivação Histórica
Listeria	Listeria, nomeado em honra do cirurgião inglês Lord Joseph Lister
L. monocytogenes	monocytum, uma célula sanguínea ou monócito; gennaio, produz (produtor de monócito; extratos da membrana estimulam a produção de monócitos em coelhos, mas isso não é observado na doença humana)
Erysipelothrix	erythros, vermelho; pella, pele; thrix, cabelo (organismo fino, semelhante a cabelo, que produz uma lesão de pele vermelha ou inflamatória)
E. rhusiopathiae	rhusios, vermelho; pathos, doença (doença vermelha)
Corynebacterium	coryne, clava; bakterion, bacilo pequeno (um bacilo pequeno em forma de clava)
C. diphtheriae	diphthera, couro ou pele (referência à membrana semelhante a couro que inicialmente se forma na faringe)
C. jeikeium	jeikeium (espécie originalmente classificada como grupo JK)
C. urealyticum	urea, ureia; lyticum, lise (capaz de lisar ureia; espécie hidrolisa rapidamente a ureia)
C. amycolatum	a, destituído de; mycolatum, refere-se aos ácidos micólicos (espécie não possui ácidos micólicos na parede celular)
C. pseudotuberculosis	pseudo, semelhante a; tuberculosis (causa infecções purulentas crônicas [p.ex. tuberculose] em ovelhas e outros animais de sangue quente)
C. ulcerans	ulcerans (pode produzir úlceras na faringe como C. diphtheriae)
Arcanobacterium	arcanus, misterioso; bacterium, bacilo (bactéria misteriosa; organismo de crescimento lento que pode ser de difícil isolamento)
Rothia mucilaginosa	Nomeada em homenagem a Roth, bacteriologista que originalmente estudou esse grupo de organismos; <i>mucilaginosa</i> , viscosa (organismos viscosos ou mucoides)
Tropheryma whipplei	trophe, nutrição; eryma, barreira; whipple, em homenagem a George Whipple que descreveu, em 1907, uma doença de má absorção; também chamada de doença de Whipple



Tabela 21-2

Doenças Humanas Associadas à Listeria e Bactérias Relacionadas

Micro-organismo	Doenças
Listeria monocytogenes	Doença neonatal (aborto espontâneo, abscessos e granulomas disseminados, meningite, septicemia); semelhante à <i>influenza</i> em adultos saudáveis; bacteremia ou doença disseminada com meningite em gestantes e pacientes com defeitos da imunidade celular
Erysipelothrix rhusiopathiae	Erisipeloide (lesão de pele inflamatória pruriginosa, dolorosa); doença cutânea generalizada: uma infecção cutânea difusa com febre e artralgias; septicemia, normalmente associada a endocardite
Corynebacterium diphtheriae	Difteria (respiratória, cutânea); faringite e endocardite (cepas não toxigênicas)
C. jeikeium (grupo JK)	Septicemia, endocardite, infecções de feridas, infecções de corpo estranho (cateter, derivação, prótese)
C. urealyticum	Infecções do trato urinário (incluindo pielonefrite e cistite incrustada alcalina), septicemia, endocardite, infecções de feridas
C. amycolatum	Infecções de feridas, infecções de corpo estranho, septicemia, infecções do trato urinário, infecções do trato respiratório
C. pseudotuberculosis	Linfadenite, linfangite ulcerativa, formação de abscesso, difteria respiratória
C. ulcerans	Difteria respiratória
Arcanobacterium	Faringite, celulite, infecções das feridas, formação de abscesso, septicemia, endocardite
Rothia	Endocardite, infecções de corpos estranho
Tropheryma	Doença de Whipple

Listeria monocytogenes

O gênero Listeria é composto por 19 espécies, sendo que o *L. monocytogenes* é o patógeno humano mais significativo. O *L. monocytogenes* é um bacilo pequeno (0,4-0,5 × 0,5 a 2 μm), não ramificado, Gram-positivo, anaeróbio facultativo, com capacidade para crescer em uma ampla faixa de temperatura (1°C a 45°C) e em altas concentrações de sal. Os **bacilos curtos** aparecem isoladamente, em pares ou em pequenas cadeias (Fig. 21-2) e podem ser confundidos com *Streptococcus pneumoniae*. Isso é importante, porque tanto o *S. pneumoniae* quanto o *L. monocytogenes* podem causar meningite. Os organismos são **móveis** à temperatura ambiente, mas a mobilidade é menor a 37°C, e apresentam uma mobilidade "em cambalhota" característica, quando uma gota de meio de cultura em caldo é examinada microscopicamente. O *L. monocytogenes* exibe uma β-hemólise fraca quando é cultivada em placa de ágar de sangue de carneiro. Essas características diferenciais (i.e., morfologia na coloração de Gram, mobilidade, β-hemólise) são úteis para a identificação preliminar de *Listeria*. Ainda que as bactérias estejam amplamente distribuídas na natureza, as doenças humanas são incomuns e são restritas principalmente a populações bem definidas: recém-nascidos, idosos, gestantes e pacientes com imunidade celular comprometida.

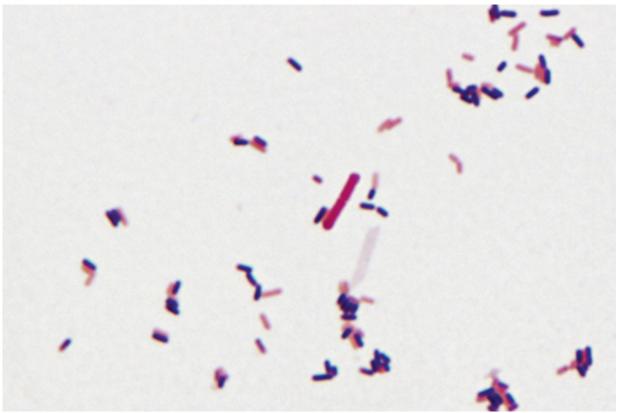


FIGURA 21-2 Coloração de Gram de *Listeria monocytogenes* em cultura. *Listeria* aparece como um pequeno bacilo Gram-positivo; alguns descoram rapidamente e aparecem Gram-negativos. O maior bacilo Gram-negativo no centro da fotografia é uma *Escherichia coli*.

Patogênese e Imunidade

O L. monocytogenes é um patógeno intracelular facultativo. Após a ingestão de alimentos contaminados, o L. monocytogenes é capaz de sobreviver à exposição às enzimas proteolíticas, ao ácido estomacal e aos sais biliares, através da ação protetora de genes de resposta ao estresse. As bactérias são então capazes de aderir às células hospedeiras pela interação de proteínas presentes na sua superfície (i.e., internalina A [InIA]) com receptores de glicoproteínas presentes na superfície das células do hospedeiro (p.ex., caderina epitelial [adesina dependente de cálcio]). Outras internalinas (p.ex., InlB) podem reconhecer receptores em uma ampla variedade de células hospedeiras. Estudos com modelos animais mostraram que a infecção se inicia nos enterócitos ou nas células M nas placas de Peyer. Após a penetração nas células, o pH ácido do fagolisossoma que circunda as bactérias ativa uma citolisina bacteriana formadora de poro (listeriolisina O) e duas diferentes enzimas fosfolipases C, levando à liberação das bactérias no citoplasma da célula. As bactérias começam a se replicar e migram para a membrana celular. Esse movimento é mediado por uma proteína bacteriana, ActA (localizada na superfície de uma das extremidades da bactéria), que coordena a montagem da actina. As extremidades distais da cauda de actina permanecem fixas, enquanto a montagem ocorre junto à extremidade da bactéria. Assim, esta é empurrada em direção à membrana da célula e se forma uma protrusão (filopódio), empurrando a bactéria para dentro da célula adjacente. Após a ingestão da bactéria pela célula adjacente, os processos de lise do fagolisossoma, replicação bacteriana e movimento direcional se repetem. A entrada nos macrófagos após a passagem através do revestimento intestinal transporta a bactéria para o fígado e para o baço, levando à disseminação da doença. Os genes responsáveis pela

lise da membrana, pela replicação intracelular e pelo movimento direcional são agrupados juntos e regulados por um único gene *prfA* ou o gene do "fator regulatório positivo".

A imunidade humoral é relativamente pouco importante para o controle das infecções causadas por *L. monocytogenes*. Essas bactérias podem se replicar nos macrófagos e mover-se para dentro das células, impedindo a remoção mediada pelos anticorpos. Por essa razão, pacientes com a **imunidade celular** comprometida, mas não na imunidade humoral, são particularmente susceptíveis a infecções graves.

Epidemiologia

A *L. monocytogenes* é isolada de uma variedade de fontes ambientais e de fezes de mamíferos, pássaros, peixes e outros animais. A fonte primária de infecção por esse organismo é o consumo de alimentos contaminados; entretanto, a transmissão pessoa a pessoa pode ocorrer principalmente da mãe para o bebê, no útero ou durante o nascimento. Estima-se que de 1% a 5% das pessoas saudáveis sejam portadoras de *L. monocytogenes* nas fezes. Como o organismo é ubíquo, é provável que ocorra exposição e colonização transitórias na maioria dos indivíduos. Nos Estados Unidos, cerca de 850 infecções são relatadas anualmente; no entanto, muitas infecções brandas não o são. Grandes surtos associados a **produtos alimentares contaminados** são bem documentados. Por exemplo, em um surto ocorrido em 1999 foram recolhidas 13 toneladas de carne contaminada; e, em um segundo surto ocorrido em 2000, em diversos estados norte-americanos, 7 toneladas de carne de peru e frango processados foram recolhidas. Muitas pessoas foram expostas à bactéria antes da coleta ser completamente concluída. A incidência da doença também é desproporcional em **populações de alto risco**, tais como recém-nascidos, idosos, gestantes e pacientes com defeitos graves da imunidade celular (p.ex., pacientes transplantados, com linfomas ou com síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]).

A listeriose humana é uma doença esporádica observada ao longo do ano, com focos epidêmicos e casos esporádicos associados ao consumo de carne processada mal cozida (p.ex., salsichas de peru, frios fatiados), leite ou queijos não pasteurizados ou contaminados e vegetais crus mal lavados, incluindo o repolho. Embora os produtos frescos sejam uma causa incomum de surtos, a doença associada ao consumo de melão contaminado foi reportada em 147 indivíduos em 2011 (86% tinham 60 anos ou mais; taxa de mortalidade de 22%). Como a *Listeria* pode crescer em uma ampla faixa de pH e em baixas temperaturas, alimentos com uma pequena quantidade de organismos podem se tornar altamente contaminados durante a refrigeração prolongada. A doença pode ocorrer se o alimento não for cozido, ou for cozido inadequadamente antes do consumo (p.ex., carne e salsichas de peru preparados no micro-ondas). Ainda que as infecções por *Listeria* sejam relativamente incomuns, constituem a principal causa de morte atribuída a doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos.

Doenças Clínicas (Tabela 21-2)

Doença Neonatal

Foram descritas duas formas de doença neonatal: (1) **doença de início precoce**, adquirida no útero, através da placenta; e (2) **doença de início tardio**, adquirida ao nascimento ou logo após o nascimento. As doenças de início precoce podem resultar em aborto, natimortos ou nascimentos prematuros. A **granulomatose infantisséptica** é uma forma grave de listeriose de início precoce, caracterizada pela formação de abscessos e granulomas em múltiplos órgãos e uma alta taxa de mortalidade, a menos que o tratamento seja imediato.

A doença, de início tardio, ocorre de 2 a 3 semanas após o nascimento, na forma de meningite ou meningoencefalite com septicemia. Os sinais e sintomas clínicos não são únicos; assim, outras causas de doenças do sistema nervoso central, como doença estreptocóccica do grupo B, devem ser excluídas.

Infecções em Mulheres Grávidas

A maioria das infecções em mulheres grávidas ocorre durante o terceiro trimestre, quando a imunidade celular está mais comprometida. As mulheres infectadas tipicamente desenvolvem sintomas não específicos como os causados pelo *influenza*, que podem ser resolvidos sem tratamento. A menos que culturas de sangue sejam coletadas em gestantes que estejam apresentando febre sem outra fonte de infecção (p.ex., infecção do trato urinário), a bacteremia por *Listeria* e o risco neonatal associado podem passar despercebidos.

Doença em Adultos Saudáveis

A maioria das infecções causadas por *Listeria* em adultos saudáveis é assintomática ou ocorre na forma de uma doença leve, semelhante à *influenza*. Alguns pacientes desenvolvem gastroenterite aguda e autolimitada, caracterizada por um período de incubação de 1 dia, seguido de 2 dias de sintomas, incluindo diarreia aquosa, febre, náuseas, dor de cabeça, mialgias e artralgias. Em contraste com esse quadro autolimitado, a listeriose é mais severa em pacientes idosos ou que apresentam imunidade celular comprometida.

Meningite em Adultos (Caso Clínico 21-1)

A meningite é a forma mais comum de infecção disseminada por *Listeria* em adultos. Embora os sinais e sintomas clínicos da meningite causados por este organismo não sejam específicos, deve-se suspeitar sempre de *Listeria* em pacientes com

transplantes de órgãos ou com câncer e em gestantes que desenvolvem meningite. A doença está associada a uma alta mortalidade (20% a 50%) e sequelas neurológicas significativas entre os sobreviventes.



Caso Clínico 21-1 Meningite por Listeria em Homem Imunocomprometido

Esse paciente descrito por Bowie et al. (*Ann Pharmacother* 38:58-61, 2004) ilustra a apresentação clínica da meningite por *Listeria*. Um homem de 73 anos com artrite reumatoide refratária foi conduzido por sua família para o hospital local devido à diminuição do nível de consciência e um histórico de 3 dias de dor de cabeça, náuseas e vômitos. Sua medicação atual compreendia infliximab, metotrexato e prednisona para artrite reumatoide. No exame físico, o paciente estava febril e apresentava rigidez de nuca, tinha um pulso de 92 batimentos/min e pressão arterial de 179/72 mmHg. Como houve suspeita de meningite, foram feitas coletas de sangue e líquido cefalorraquidiano (LCR) para cultura. A coloração de Gram do LCR foi negativa, mas houve crescimento de *Listeria* nas culturas de sangue e LCR. O paciente foi tratado com vancomicina, o infliximab foi interrompido, e ele recuperou-se sem intercorrências, apesar de não ter utilizado uma terapia antimicrobiana ótima. O infliximab tem sido associado a uma monocitopenia dependente da dose. Considerando que os monócitos são efetores fundamentais para a remoção da *Listeria*, esse paciente imunodeprimido estava exposto a um alto risco de infecção especificamente por esse organismo. A falha na detecção de *Listeria* no LCR pela coloração de Gram é típica dessa doença, porque as bactérias não se multiplicam a níveis detectáveis.

Bacteremia Primária

Os pacientes com bacteremia podem ter um histórico pouco importante de calafrios e febre (comumente observado em mulheres grávidas), ou uma apresentação mais aguda com febre alta e hipotensão. Somente os pacientes gravemente imunocomprometidos e os bebês de gestantes com sepse apresentam risco de morte.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

As preparações de líquido cefalorraquidiano (LCR) coradas com Gram tipicamente não mostram organismo algum, porque as bactérias geralmente estão presentes em concentrações abaixo dos limites da detecção (p.ex., 10⁴ bactérias por mililitro de LCR ou menos). Isso contrasta com o que ocorre na maioria dos outros patógenos bacterianos do sistema nervoso central, que estão presentes em concentrações de 100 a 1.000 vezes maiores. Quando a coloração de Gram revela a presença de organismos, eles são cocobacilos Gram-positivos intra e extracelulares. Deve-se tomar cuidado para distingui-los de outras bactérias, como *S. pneumoniae, Enterococcus* e *Corynebacterium*.

Cultura

A *Listeria* cresce na maioria dos meios convencionais de laboratório como pequenas colônias circulares, observadas no ágar após incubação por 1 a 2 dias. Pode ser necessário usar meios seletivos e **enriquecimento a frio** (armazenamento da amostra no refrigerador por um período prolongado) para detectar *Listeria* em amostras contaminadas com bactérias de crescimento rápido. A β-hemólise em meio ágar-sangue de carneiro pode servir para distinguir a *Listeria* de bactérias morfologicamente semelhantes; no entanto, a hemólise geralmente é fraca e pode não ser observada inicialmente. Esta é acentuada quando os organismos são cultivados juntamente com *Staphylococcus aureus* β-hemolíticos. Essa hemólise acentuada é referida como teste CAMP positivo (Christie, Atkins, Munch-Petersen). A mobilidade característica do organismo em um meio líquido ou em ágar semissólido também é útil para a identificação preliminar de *Listeria*. Todos os bacilos Gram-positivos isolados do sangue e do LCR devem ser identificados para distinguir-se entre *Corynebacterium* (presumivelmente um contaminante) e *Listeria*.

Identificação

Os testes bioquímicos selecionados são usados para identificar definitivamente o patógeno, o que é importante pelo fato de que a *L. monocytogenes*, a única espécie responsável por causar doença em humanos, deve ser diferenciada de outras espécies de *Listeria* que podem contaminar produtos alimentícios. Os métodos sorológicos e de tipagem molecular são usados para investigações epidemiológicas. Foram descritos 13 sorotipos no total; contudo, os sorotipos 1/2a, 1/2b e 4b são responsáveis pela maioria das infecções em recém-nascidos e adultos, de modo que a sorotipagem geralmente não é útil nas investigações epidemiológicas. A eletroforese em campo elétrico pulsado (PFGE, do inglês, *pulsed-field gel electrophoresis*) e, mais recentemente, a análise de sequenciamento do genoma inteiro são os métodos moleculares mais comumente utilizados nas investigações epidemiológicas das suspeitas de surto.

Tratamento, Prevenção e Controle

Como a maioria dos antibióticos são apenas bacteriostáticos para *L. monocytogenes*, a combinação de **gentamicina com penicilina ou ampicilina** é o tratamento de escolha para infecções graves. As listérias são naturalmente resistentes às cefalosporinas, e tem sido observada resistência aos macrolídeos, fluoroquinolonas e às tetraciclinas, o que pode limitar a utilidade desses fármacos. O sulfametoxazol-trimetoprim é bactericida para *L. monocytogenes* e tem sido usado com sucesso.

Outros antibióticos, como linezolida, daptomicina e tigeciclina, apresentam boa atividade *in vitro*, mas não têm sido usados extensivamente no tratamento dos pacientes.

Como as *listerias* são ubíquas, e a maioria das infecções são esporádicas, a prevenção e o controle são difíceis. As pessoas com alto risco de infecção devem evitar a ingestão de alimentos de origem animal crus ou parcialmente cozidos, requeijões e vegetais crus não lavados. Não está disponível qualquer vacina, e a terapia profilática com antibióticos para pacientes de alto risco ainda não foi avaliada.

Erysipelothrix rhusiopathiae

Fisiologia e Estrutura

O *E. Rhusiopathiae* é um bacilo Gram-positivo, não formador de esporos, que se encontra mundialmente distribuído em animais selvagens e domésticos. Os bacilos são delgados (0,2 a 0,5 × 0,8 a 2,5 μm) e algumas vezes pleomórficos, com uma tendência para formar filamentos em "forma de cabelo" de até 60 μm. Eles descoram rapidamente e podem parecer Gramnegativos (Fig. 21-3). Os organismos são microaerofílicos, crescendo melhor em uma atmosfera com oxigênio reduzido e com suplementação de dióxido de carbono (5% a 10% de CO₂). Observa-se uma mistura de colônias minúsculas lisas e colônias maiores ásperas, após 2 a 3 dias de incubação. Se as colônias ásperas estiverem ausentes, as colônias pequenas lisas podem passar despercebidas, a não ser que as placas de cultura sejam examinadas cuidadosamente.

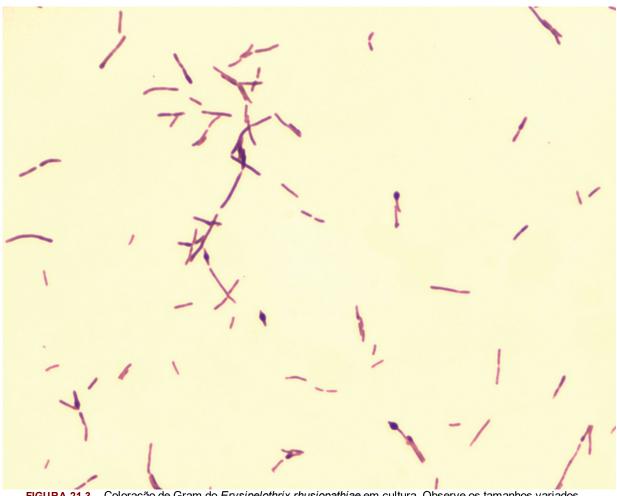


FIGURA 21-3 Coloração de Gram do Erysipelothrix rhusiopathiae em cultura. Observe os tamanhos variados dos bacilos e a aparência de "Gram-negativo".

Patogênese

Pouco se sabe sobre os fatores de virulência específicos do *Erysipelothrix*. Acredita-se que a produção de neuraminidase é importante para a adesão e penetração nas células epiteliais e, também, que uma cápsula de constituição semelhante à cápsula polissacarídica proteja a bactéria da fagocitose.

Epidemiologia

O Erysipelothrix é um organismo ubíquo que está distribuído mundialmente. Esse organismo pode ser isolado a partir das amígdalas ou do trato digestivo de muitos animais selvagens e domésticos, incluindo mamíferos, pássaros e peixes. A

colonização é particularmente alta em **suínos** e **perus**. O solo rico em matéria orgânica ou a água subterrânea contaminada com resíduos animais podem facilitar a disseminação entre uma população de animais. As bactérias são resistentes ao ressecamento e podem sobreviver no solo por meses, até anos. Além disso, o *E. rhusiopathiae* é resistente a altas concentrações de sal, à salmoura e à defumação. A doença por *Erysipelothrix* nos seres humanos é **zoonótica** (dissemina-se de animais para humanos) e primariamente ocupacional. Os açougueiros, processadores de carne, fazendeiros, criadores de aves, manipuladores de peixes e veterinários estão sob maior risco. As infecções cutâneas se desenvolvem tipicamente após o organismo ser inoculado subcutaneamente através de uma abrasão ou de um ferimento perfurante, durante o manuseio de produtos animais ou de solos contaminados. A incidência da doença humana é desconhecida, porque a infecção por *Erysipelothrix* não é uma doença notificável.

Doenças clínicas (Tabela 21-2; Caso Clínico 21-2)

A doença animal, particularmente em suínos, é amplamente conhecida, porém a doença humana é menos comum. Foram descritas três formas primárias de infecção humana causada por *E. rhusiopathiae*: (1) infecção cutânea localizada, **erisipeloide** (não confundir com a erisipela estreptocócica); (2) doença cutânea generalizada; e (3) **septicemia**. O erisipeloide é uma lesão inflamatória de pele que se desenvolve no local do trauma após 2 a 7 dias de incubação. A lesão comumente se apresenta nos dedos ou nas mãos e aparece arroxeada com bordas aumentadas. A lesão se espalha de forma lenta, perifericamente, à medida que a descoloração na área central desaparece gradualmente. A lesão dolorosa é pruriginosa, e o paciente experimenta uma sensação de queimação ou latejamento. A supuração é incomum, uma característica que distingue erisipeloide das erisipelas estreptocócicas. A cura pode ser espontânea, porém pode ser apressada com a terapia antibiótica apropriada. A infecção cutânea difusa é caracterizada pelo desenvolvimento de lesões na área geral da lesão inicial ou em outros locais da pele. Os sinais sistêmicos de febre e artralgias são comuns, porém as culturas de sangue são tipicamente negativas.



Caso Clínico 21-2 Endocardite por Erysipelothrix

A endocardite causada pelo *Erysipelothrix rhusiopathiae* é uma doença incomum, mas bem reconhecida. O caso a seguir, relatado por Artz et al. (*Eur J Clin Infect Dis Microbiol* 20:587-588, 2001), é típico desta doença. Um homem de 46 anos que trabalhava como açougueiro e tinha um histórico de alcoolismo foi admitido no hospital com uma erupção eritematosa na parte superior do corpo e uma queixa de artralgias de ambos os ombros. O histórico médico revelou 4 semanas de suores noturnos e calafrios recorrentes diários, o que o paciente atribuiu à bebida. O exame físico revelou hepatosplenomegalia, sopro sistólico detectado na ausculta e uma válvula aórtica calcificada com regurgitação leve, mas sem vegetações ao ecocardiograma. Foram coletadas cinco hemoculturas e todas foram positivas para *E. rhusiopathiae* após 2 dias. O paciente foi encaminhado à cirurgia para substituição da válvula, e foram detectados abscessos paravalvares durante a cirurgia. Após a correção cirúrgica, o paciente foi tratado com clindamicina e penicilina e se recuperou completamente. Esse caso ilustra os fatores de risco (i.e., açougueiro, alcoolismo), o curso crônico e o valor da cirurgia combinada com o tratamento com antibióticos eficazes (i.e., penicilina, clindamicina).

A forma septicêmica das infecções causadas por *Erysipelothrix* é incomum, mas quando ocorre está frequentemente associada à endocardite. A endocardite por *Erysipelothrix* pode ter um início agudo, mas quase sempre é subagudo. O envolvimento de válvulas cardíacas previamente não danificadas (em particular a válvula aórtica) é comum. Outras complicações sistêmicas (p.ex., formação de abscesso, meningite, osteomielite) são relativamente incomuns.

Diagnóstico Laboratorial

Os bacilos são localizados somente no tecido profundo da lesão. Por isso, devem ser coletadas amostras de biópsias espessas ou de aspirados profundos das margens da lesão. A coloração de Gram da amostra é geralmente negativa, embora a presença de **bacilos finos** e **Gram-positivos** associados a lesões características e histórico clínico possa ser suficiente para o diagnóstico. O *E. rhusiopathiae* não é um organismo fastidioso e cresce na maioria dos meios de cultura convencionais dos laboratórios, quando incubados na presença de 5% a 10% de CO₂; no entanto, o crescimento é lento, e as culturas devem ser incubadas por 3 dias ou mais antes de serem consideradas negativas. A ausência de mobilidade e da produção de catalase distingue este organismo da *Listeria*. O organismo é fracamente fermentativo e produz sulfeto de hidrogênio em ágar ferrotriplo açúcar. A sorologia não é útil para o diagnóstico, uma vez que a resposta de anticorpos nas infecções humanas é fraca.

Tratamento, Prevenção e Controle

O *Erysipelothrix* é sensível à **penicilina**, que é o antibiótico de escolha tanto para a doença localizada quanto para a doença sistêmica. As cefalosporinas, os carbapenêmicos, as fluoroquinolonas e a clindamicina também são ativos *in vitro*; porém, o organismo apresenta uma sensibilidade variável aos macrolídeos, sulfonamidas e aminoglicosídeos e é resistente à vancomicina. Para pacientes alérgicos à penicilina, o ciprofloxacino ou a clindamicina podem ser usados para infecções cutâneas localizadas, a ceftriaxona e o imipenem podem ser considerados para as infecções disseminadas. As infecções em

pessoas com alto risco ocupacional podem ser evitadas com o uso de luvas e outras proteções apropriadas à pele exposta. A vacinação é usada para controlar a doença em suínos.

Corynebacterium diphtheriae

O gênero Corynebacterium é uma ampla e heterogênea coleção de mais de 100 espécies e subespécies que possuem uma parede celular contendo arabinose, galactose, ácido meso-diaminopimélico (meso-DAP) e (na maioria das espécies) ácidos micólicos de cadeia curta (22 a 36 átomos de carbono). Embora organismos que possuem ácidos micólicos de cadeias média e longa sejam corados por coloração álcool-acidorresistente (Cap. 22), os organismos Corynebacterium não são acidorresistentes. A coloração de Gram dessas bactérias revela agregados e cadeias curtas de bacilos com forma irregular (claviformes) (Fig. 21-4). As corinebactérias são aeróbias ou anaeróbias facultativas, imóveis e catalase-positivas. A maioria das espécies (mas não todas) fermenta carboidratos, produzindo ácido lático como subproduto. Muitas espécies crescem bem nos meios de cultura comuns dos laboratórios; no entanto, algumas espécies formam colônias pequenas porque necessitam de meios com suplementação de lipídios (cepas lipofílicas) para que ocorra um bom crescimento.

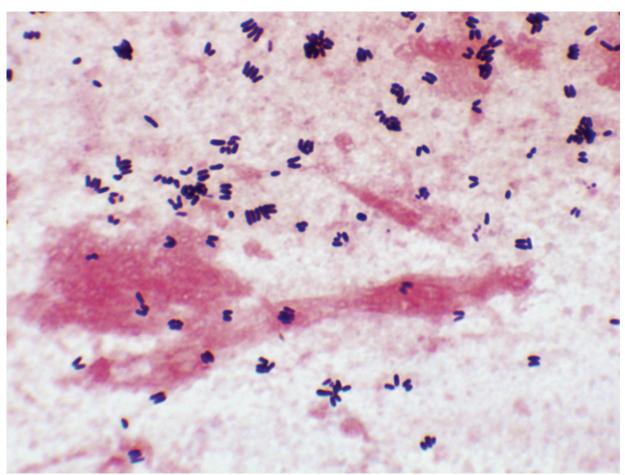


FIGURA 21-4 Coloração de Gram da espécie Corynebacterium em amostra de escarro.

As corinebactérias são ubíquas em plantas e animais, e normalmente colonizam a pele, trato respiratório superior, trato gastrointestinal e trato genitourinário de humanos. Apesar de todas as espécies de corinebactéria poderem funcionar como patógenos oportunistas, relativamente poucas delas são associadas a doenças em seres humanos (Tabela 21-2). A espécie mais conhecida é o *C. diphtheriae*, o agente etiológico da **difteria**. Já foram caracterizados vários outros gêneros de bactérias corineformes. Três gêneros associados à doença humana (*Arcanobacterium*, *Rothia*, *Tropheryma*) estão listados na Tabela 21-2, mas não serão discutidos em mais detalhe.

Fisiologia e Estrutura

O *C. diphtheriae* é um bacilo pleomórfico (0,3 a 0,8 × 1,0 a 8,0 μm) que se cora irregularmente. Após incubação por uma noite, são observadas colônias grandes com 1 a 3 mm de diâmetro em meio ágar-sangue. Outros meios mais seletivos e diferenciais podem ser utilizados para identificar esse patógeno a partir de espécimes com presença de outros organismos, como amostras da faringe. Essa espécie é subdividida em quatro biótipos de acordo com a morfologia da colônia e propriedades bioquímicas: *belfanti, gravis, intermedius* e *mitis*, sendo que a maioria das doenças é causada pelo **biotipo** *mitis*.

Patogênese e Imunidade

A **toxina diftérica** é o principal fator de virulência de *C. diphtheriae*. O gene *tox* que codifica a exotoxina é introduzido nas cepas de *C. diphtheriae* por um bacteriófago lisogênico, **fago-**β. São necessárias duas etapas de processamento para a secreção do produto gênico ativo: (1) clivagem proteolítica da sequência líder da proteína *Tox* durante a secreção, a partir da célula bacteriana, e (2) clivagem da molécula de toxina em dois polipeptídeos (A e B), que permanecem ligados por uma ponte dissulfeto. Essa proteína de 58.300 Da é um exemplo da **exotoxina A-B** clássica.

Existem três regiões funcionais na molécula da toxina: uma região catalítica localizada na subunidade A, uma região de ligação com o receptor e uma região de translocação, ambas localizadas na subunidade B. O receptor para a toxina é o fator de crescimento epidérmico ligante de heparina, que está presente na superfície de diversas células eucarióticas, especialmente nas células cardíacas e nervosas; a sua presença explica os sintomas neurológicos e cardíacos observados em pacientes com difteria grave. Após a ligação da toxina à célula hospedeira, a região de translocação é inserida na membrana endossômica, facilitando a movimentação da região catalítica para dentro do citosol. A subunidade A então bloqueia a síntese de proteínas da célula hospedeira pela inativação do fator de alongamento-2 (EF-2), o qual é necessário para a movimentação das cadeias peptídicas originadas nos ribossomos. Como a renovação (turnover) de EF-2 é muito lenta e apenas está presente na célula cerca de uma molécula para cada ribossomo, estima-se que uma única molécula de exotoxina seja capaz de inativar todo o conteúdo de EF-2 de uma célula, impedindo completamente a síntese de proteínas da célula do hospedeiro. A síntese da toxina é regulada por um elemento codificado nos cromossomos, o repressor da toxina diftérica (DTxR). Essa proteína, ativada na presença de altas concentrações de ferro, é capaz de se ligar ao operador do gene da toxina e reprimir a sua produção.

Epidemiologia

A difteria é uma doença encontrada em todo mundo, particularmente em áreas urbanas pobres onde existe superpopulação, e com baixo nível de proteção imune induzida pela vacinação. O maior surto de difteria do fim do século XX ocorreu na extinta União Soviética, onde, em 1994, cerca de 48.000 casos foram documentados, com 1.746 mortes. Indivíduos imunizados que se tornaram **portadores assintomáticos** de *C. diphtheriae* na orofaringe ou na pele são os responsáveis pela manutenção do patógeno na população. A transmissão de pessoa a pessoa ocorre pelas gotículas respiratórias e contato com a pele. Os **seres humanos** representam o **único reservatório conhecido** para esse organismo.

A difteria tornou-se incomum nos Estados Unidos devido a um programa de imunização ativa, tal como comprova o fato de terem sido notificados mais de 200.000 casos no ano de 1921, mas nenhum caso ter sido notificado a partir de 2003. Uma análise das infecções por *C. diphtheriae* no Reino Unido entre os anos 1986 e 2008 identificou as viagens de indivíduos não imunizados para países onde a doença é endêmica (p.ex., do subcontinente indiano, da África e do Sudeste da Ásia) como sendo o principal fator de risco para infecção. A difteria é primariamente uma doença pediátrica, mas a maior incidência da doença tem mudado para grupos de indivíduos em faixas etárias mais altas, que vivem em áreas onde existem programas de imunização ativos para crianças. A infecção cutânea com cepas toxigênicas de *C. diphtheriae* (difteria cutânea) também ocorre, no entanto, a incidência é desconhecida, uma vez que essa doença não é de notificação obrigatória nos Estados Unidos.

Doenças Clínicas

A apresentação clínica da difteria é determinada (1) pelo local da infecção, (2) pelo estado imunológico do paciente e (3) pela virulência do micro-organismo. A exposição a *C. diphtheriae* pode resultar em colonização assintomática em pessoas totalmente imunes, doença respiratória moderada em pacientes parcialmente imunes ou em doença fulminante, algumas vezes fatal, em pacientes não imunes. A toxina diftérica é produzida no local da infecção, sendo depois disseminada pela corrente sanguínea para produzir os sinais sistêmicos de difteria. O micro-organismo não precisa entrar no sangue para causar a doença.

Difteria Respiratória (Caso Clínico 21-3)

Os sintomas de difteria envolvendo o trato respiratório se desenvolvem após um período de incubação de 2 a 4 dias. Os micro-organismos se multiplicam localmente nas células epiteliais da faringe ou superfícies adjacentes e, inicialmente, causam lesão localizada como resultado da atividade da exotoxina. O início é súbito com mal-estar, dor de garganta, faringite exsudativa e febre baixa. O exsudato evolui para uma espessa pseudomembrana composta por bactérias, linfócitos, células plasmáticas, fibrina e células mortas que pode recobrir as tonsilas, úvula e o palato, e pode se estender para a nasofaringe ou laringe (Fig. 21-5). A pseudomembrana adere firmemente ao tecido subjacente e é difícil de ser removida sem causar sangramento do tecido (único à difteria). À medida que o paciente se recupera, após aproximadamente uma semana de curso da doença, a membrana se desprende e é expectorada. As complicações sistêmicas em pacientes com doença grave envolvem primariamente o coração e o sistema nervoso. Pode ser detectada evidência de miocardite na maioria dos pacientes com difteria, desenvolvendo-se tipicamente entre 1 ou 2 semanas de doença, e em um período em que os sintomas faríngeos começam a melhorar. Os sintomas podem aparecer gradualmente ou de forma aguda, progredindo em doença grave para insuficiência cardíaca congestiva, arritmias cardíacas e morte. A neurotoxicidade é proporcional à gravidade da doença primária, a qual é influenciada pela imunidade do paciente. A maioria dos pacientes com doença primária grave desenvolve neuropatia, inicialmente localizada no palato mole e faringe, e, posteriormente, envolvendo o sistema oculomotor, causando paralisia ciliar com progressão para neurite periférica.

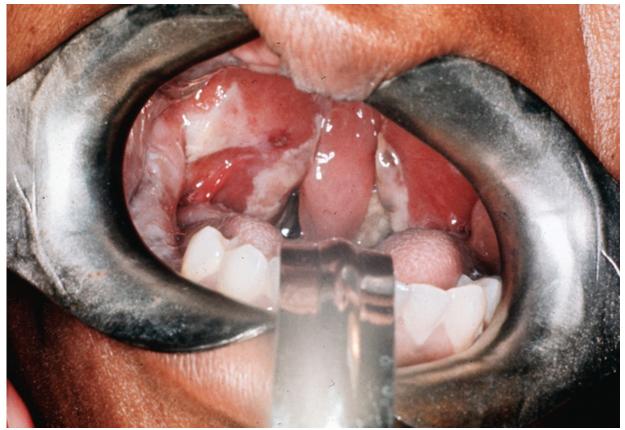


FIGURA 21-5 Faringe de uma paciente do sexo feminino, 39 anos, apresentando difteria confirmada bacteriologicamente. A fotografia foi obtida 4 dias após o início de febre, mal-estar e dor de garganta. A hemorragia causada pela remoção da membrana com esfregaço aparece como uma área escura à esquerda. (De Mandell G, Bennett J, Dolin R: *Principles and practice of infectious diseases*, ed 8, Philadelphia, 2015, Elsevier.)



Caso Clínico 21-3 Difteria Respiratória

Lurie et al. (JAMA 291:937-938, 2004) reportaram o último caso de difteria respiratória nos Estados Unidos. Um homem de 63 anos, não vacinado, desenvolveu dor de garganta durante a semana em que viajava pela zona rural do Haiti. Dois dias após ter retornado para sua casa na Pensilvânia, ele procurou o hospital local com queixas de dor de garganta e dificuldade para deglutir. O paciente foi tratado com antibióticos orais e retornou após 2 dias com calafrios, sudorese, dificuldade para deglutir e respirar, náuseas e vômitos. Ele apresentou diminuição dos sons respiratórios no pulmão esquerdo, e os exames radiográficos confirmaram a presença de infiltrado pulmonar, bem como alargamento da epiglote. A laringoscopia revelou a presença de exsudato amarelado nas tonsilas, faringe posterior e palato mole. O paciente foi internado na unidade de terapia intensiva e tratado com azitromicina, ceftriaxona, nafcilina e esteroides. No entanto, ao longo dos 4 dias subsequentes, ele tornou-se hipotenso e apresentou febre baixa. As culturas foram negativas para Corynebacterium diphtheriae. No oitavo dia de doença, uma radiografia do tórax demonstrou infiltrados na base dos pulmões direito e esquerdo, e foi observado um exsudato branco consistente com pseudomembrana produzida pelo C. diphtheriae recobrindo as estruturas supraglóticas. As culturas, nessa ocasião, continuaram negativas para C. diphtheriae, mas o teste de reação em cadeia da polimerase para o gene da exotoxina foi positivo. Apesar do tratamento agressivo, o paciente continuou a piorar e, no 17° dia de hospitalização, desenvolveu complicações cardíacas e faleceu. Esse caso ilustra (1) o fator de risco de um paciente não imunizado ao viajar para áreas endêmicas, (2) a apresentação clássica da difteria respiratória grave, (3) os atrasos associados a diagnósticos de uma doença incomum, e (4) as dificuldades que a maioria dos laboratórios teriam atualmente para isolar organismo em cultura.

Difteria Cutânea

A difteria cutânea é adquirida pelo contato da pele com outras pessoas infectadas. O micro-organismo coloniza a pele e penetra no tecido subcutâneo através de fissuras na pele. Inicialmente, ocorre o desenvolvimento de uma pápula que evolui para uma **úlcera crônica que não cicatriza** e que, algumas vezes, é coberta por uma membrana acinzentada. Com frequência, *Staphylococcus aureus* ou *Streptococcus pyogenes* também estão presentes nessas feridas.

Diagnóstico Laboratorial

O tratamento inicial de um paciente com difteria é instituído com base no diagnóstico clínico e não com base nos resultados laboratoriais, uma vez que os resultados definitivos apenas são disponibilizados em, no mínimo, 1 semana.

Microscopia

Os resultados do exame microscópico do material clínico não são confiáveis. Grânulos metacromáticos em bactérias coradas com azul de metileno vêm sendo descritos, mas essa característica não é exclusiva para *C. diphtheriae*.

Cultura

Os espécimes clínicos para o isolamento de *C. diphtheriae* devem ser coletados tanto da nasofaringe quanto da orofaringe e precisam ser inoculados em um meio não seletivo, placa de ágar-sangue enriquecida, e em um meio seletivo (p.ex., ágar-sangue cisteína-telurito [CTBA], meio Tinsdale, ágar colistina-ácido nalidíxico [CNA]). O telurito inibe o crescimento da maioria das bactérias do trato respiratório superior e de bacilos Gram-negativos, além de ser reduzido pelo *C. diphtheriae*, produzindo uma coloração acinzentada ou negra na placa de ágar. A degradação da cisteína pela atividade da cisteínase de *C. diphtheriae* produz uma auréola marrom ao redor das colônias. O meio CTBA tem longa vida na "prateleira" (prático para culturas que não são frequentemente realizadas), mas inibe algumas cepas de *C. diphtheriae*. O meio Tinsdale é o melhor para cultivo de *C. diphtheriae* em amostras clínicas, mas tem uma curta vida de prateleira e requer a adição de soro de cavalo. Como as infecções por *C. diphtheriae* são raras vezes encontradas ou suspeitadas em regiões não endêmicas, os meios CTBA e Tinsdale não estão usualmente disponíveis na maioria dos laboratórios. O meio CNA é comumente utilizado para o cultivo seletivo de bactérias Gram-positivas sendo, dessa forma, um meio alternativo prático. Independentemente dos meios utilizados, todos os isolados semelhantes a *C. diphtheriae* devem ser identificados por testes bioquímicos, e a presença da exotoxina diftérica deve ser confirmada, uma vez que podem ocorrer cepas não toxigênicas.

Identificação

A identificação presumível do *C. diphtheriae* pode ser baseada na presença de cisteinase e na ausência de pirazinamidase (duas reações enzimáticas que podem ser rapidamente determinadas). A avaliação bioquímica mais extensa ou o sequenciamento de genes espécie-específicos são necessários para identificação ao nível da espécie.

Testes de Toxigenicidade

Todos os isolados de *C. diphtheriae* devem ser testados quanto à produção de exotoxina. O método considerado padrão-ouro para detecção da toxina diftérica é um ensaio de imunodifusão *in vitro* (**teste de Elek**). Um método alternativo é a detecção do gene que codifica a exotoxina utilizando um **método de amplificação de ácidos nucleicos baseado na reação em cadeia da polimerase (PCR)**. Esse teste pode detectar o gene *tox* em isolados clínicos e diretamente de espécimes clínicos (p.ex., esfregaços coletados da membrana diftérica ou material de biópsia). Embora esse teste seja rápido e específico, as cepas em que o gene *tox* não é expresso (provavelmente devido à expressão do **repressor da toxina diftérica)** podem dar um sinal positivo. As cepas não toxigênicas de *C. diphtheriae* não causam difteria clássica; no entanto, elas não devem ser ignoradas já que têm sido associadas a outras doenças importantes, incluindo septicemia, endocardite, artrite séptica, osteomielite e formação de abscesso.

Tratamento, Prevenção e Controle

O aspecto mais importante no tratamento da difteria é a administração precoce da **antitoxina diftérica** para neutralizar especificamente a exotoxina antes que ocorra sua ligação com as células do hospedeiro. A morte celular torna-se inevitável após a toxina ter sido internalizada pela célula hospedeira. Infelizmente, a progressão significativa da doença pode ocorrer antes da administração da antitoxina, uma vez que a suspeita de difteria pode não ocorrer no início. A antibioticoterapia com **penicilina ou eritromicina** é também utilizada para eliminar *C. diphtheriae* e bloquear a produção de toxina. O repouso, o isolamento para prevenir transmissão secundária e a manutenção das vias aéreas abertas em pacientes com difteria respiratória são importantes. Após a recuperação do paciente, a **imunização com toxoide diftérico** é necessária, já que a maioria dos pacientes não consegue desenvolver anticorpos protetores depois da infecção natural.

A difteria sintomática pode ser prevenida pela imunização ativa dos indivíduos com o toxoide diftérico. O toxoide diftérico imunogênico e não tóxico é obtido pelo tratamento da toxina com formalina. Inicialmente, as crianças recebem cinco injeções dessa preparação, juntamente com antígenos do tétano e de pertússis (**vacina DTP**), nas idades de 2, 4 e 6 meses, 15 a 18 meses e 4 a 6 anos. Após esse período, é recomendado um reforço a cada 10 anos com o toxoide diftérico combinado com o toxoide tetânico. A eficácia da imunização é bem documentada, sendo a doença restrita a indivíduos não imunizados ou imunizados incompletamente.

As pessoas que mantiveram contato próximo com pacientes diagnosticados com difteria apresentam risco de aquisição da doença. Devem ser coletados espécimes clínicos da nasofaringe para cultura de todas essas pessoas, e deve ser iniciada imediatamente profilaxia antimicrobiana com eritromicina ou penicilina. Qualquer indivíduo que tenha tido contato e que não tenha completado todas as etapas de imunização para difteria ou que não tenha recebido a dose de reforço nos últimos 5 anos deve receber uma dose de reforço do toxoide. As pessoas expostas à difteria cutânea devem ser tratadas da mesma maneira, uma vez que já foi relatado que essa forma de difteria é mais contagiosa que a forma respiratória. Se a infecção respiratória ou cutânea é causada por uma cepa não toxigênica, a instituição de profilaxia aos contatos próximos não é necessária.

Referências Bibliográficas

Allerberger F, Wagner M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. Clin Microbiol Infect. 2010;16:16–23.

Fenollar F, Puechal X, Raoult D. Whipple's disease. N Engl J Med. 2007;356:55-66.

Freitag N, Port G, Miner M. Listeria monocytogenes – from saprophyte to intracellular pathogen. Nat Rev Microbiol. 2009;7:623–628.

Funke G, von Graevenitz A, Clarridge 3rd JE, et al. Clinical microbiology of coryneform bacteria. Clin Microbiol Rev. 1997;10:125–159.

Gorby GL, Peacock Jr JE. *Erysipelothrix rhusiopathiae* endocarditis: microbiologic, epidemiologic, and clinical features of an occupational disease. *Rev Infect Dis.* 1988;10:317–325.

Gray MJ, Freitag NE, Boor KJ. How the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* mediates the switch from environmental Dr. Jekyll to pathogenic Mr. Hyde. *Infect Immun*. 2006;74:2505–2512.

McCollum JT, Cronquist AB, Silk BJ, et al. Multistate outbreak of listeriosis associated with cantaloupe. N Engl J Med. 2013;369:944–953.

Pamer EG. Immune responses to Listeria monocytogenes. Nat Rev Immunol. 2004;4:812-823.

Popovic T, Kombarova SY, Reeves MW, et al. Molecular epidemiology of diphtheria in Russia, 1985-1994. J Infect Dis. 1996;174:1064–1072.

Wagner KS, White JM, Crowcroft NS, et al. Diphtheria in the United Kingdom, 1986-2008: the increasing role of Corynebacterium ulcerans. *Epidemiol Infect*. 2010;138:1519–1530.

Wang Q, Chang BJ, Riley TV. Erysipelothrix rhusiopathiae. Vet Microbiol. 2010;140:405-417.

Wing E, Gregory S. Listeria monocytogenes: clinical and experimental update. J Infect Dis. 2002;185(Suppl 1):S18–S24.

Mycobacterium e Bactérias Acidorresistentes Relacionadas

Um paciente de 47 anos, receptor de transplante renal, que estava recebendo prednisona e azatioprina durante 2 anos foi admitido no centro médico universitário. Duas semanas antes, o paciente tinha notado o desenvolvimento de tosse seca e persistente. Cinco dias antes da admissão, a tosse tornou-se produtiva e desenvolveu-se dor torácica pleurítica. No dia da admissão, o paciente estava com dificuldade respiratória ligeira e as radiografias torácicas revelaram um infiltrado irregular no lobo superior direito. Os espécimes de escarro foram inicialmente enviados para cultura bacteriana e a coloração acidorresistente modificada foi positiva.

- 1. Quais são os gêneros de bactérias que vão corar com a coloração acidorresistente modificada?
- 2. Se o paciente não tem qualquer história de viagem fora dos Estados Unidos, qual seria a causa mais provável da doença respiratória?
- 3. Quais são as doenças mais comuns causadas pelos gêneros de bactérias acidorresistentes?
- 4. Quais são as propriedades morfológicas características e as propriedades de crescimento que ajudarão a diferenciar as bactérias acidorresistentes mais comuns?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Mycobacterium tuberculosis

Palavras-gatilho

Acidorresistentes, parede celular rica em lipídios, intracelular, PPD, resistentes a fármacos

Biologia e Virulência

- Bacilos fracamente Gram-positivos, fortemente acidorresistentes, aeróbios
- Parede celular rica em lipídios, tornando o micro-organismo resistente a colorações tradicionais, desinfetantes, detergentes, antibióticos antibacterianos comuns e resposta imune do hospedeiro
- Capacidade de crescimento intracelular em macrófagos alveolares
- A doença se dá principalmente pela resposta do hospedeiro à infecção

Epidemiologia

- Mundial; um terço da população mundial está infectado com este micro-organismo
- Um total de 8,6 milhões de novos casos por ano e 1,3 milhões de mortes
- Doença mais comum na China, Índia, Europa Oriental, Paquistão, África subsaariana e África do Sul
- 9.945 novos casos nos Estados Unidos em 2012
- A população sob maior risco de contrair a doença são os pacientes imunocomprometidos (principalmente os com infecção por HIV), indivíduos que fazem uso abusivo de álcool ou drogas, desabrigados e indivíduos expostos a pacientes doentes
- Os seres humanos são o reservatório natural
- Disseminação pessoa a pessoa através de aerossóis infecciosos

Doenças

- A infecção primária é pulmonar
- A disseminação para qualquer local do corpo ocorre com mais frequência em pacientes imunocomprometidos

Diagnóstico

- O teste cutâneo da tuberculina e os testes da liberação de interferon (IFN)-γ são marcadores sensíveis da exposição ao micro-organismo
- A microscopia e a cultura são sensíveis e específicas

- A detecção direta por sondas moleculares é relativamente insensível, exceto para espécimes com esfregaços acidorresistentes positivos
- Os testes de amplificação de ácidos nucleicos são importantes onde a cultura não está disponível e a microscopia é imprecisa
- A identificação é mais comumente realizada utilizando sondas moleculares espécie-específicas, sequenciamento ou espectrometria de massa

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratamento prolongado com diversos fármacos é necessário para prevenir o desenvolvimento de cepas resistentes
- Isoniazida (INH), etambutol, pirazinamida e rifampicina durante 2 meses, seguidos de 4 a 6 meses de INH e rifampicina ou combinação alternativa de fármacos
- A profilaxia para a exposição à tuberculose pode incluir INH por 6 a 9 meses ou rifampicina diária por 4 meses; pirazinamida e etambutol ou levofloxacina são usados por 6 a 12 meses após a exposição ao *M. tuberculosis* resistente a fármacos
- Imunoprofilaxia com bacilo Calmette-Guérin (BCG) em países endêmicos
- Controle da doença através de vigilância ativa, intervenção profiláctica e terapêutica e monitoramento cuidadoso dos casos

Mycobacterium leprae

Palavras-gatilho

Acidorresistentes, lepra, não cultivável, teste cutâneo, ensaios de liberação de IFN-y

Biologia e Virulência

- Bacilos fracamente Gram-positivos, fortemente acidorresistentes
- Parede celular rica em lipídios
- Não é possível ser cultivado em meios artificiais
- A doença se dá principalmente pela resposta do hospedeiro à infecção

Epidemiologia

- Menos de 300.000 novos casos foram relatados em 2005, com a maioria dos casos na Índia, Nepal e Brasil
- 64 novos casos relatados nos Estados Unidos em 2013
- A forma lepromatosa da doença, mas não a forma tuberculoide, é altamente infecciosa
- Disseminação pessoa a pessoa por contato direto ou inalação de aerossóis infecciosos

Doenças

• Formas de lepra tuberculoide (paucibacilar) e lepromatosa (multibacilar)

Diagnóstico

- A microscopia é sensível para a forma lepromatosa, mas não para a forma tuberculoide
- O teste cutâneo é necessário para confirmar a lepra tuberculoide
- A cultura não é útil

Tratamento, Prevenção e Controle

- A forma tuberculoide é tratada com rifampicina e dapsona por 6 meses; a clofazimina é adicionada a esse regime para o tratamento da forma lepromatosa e a terapia é estendida para um mínimo de 12 meses
- · A doença é controlada através do rápido reconhecimento e tratamento dos indivíduos infectados

Complexo Mycobacterium avium

Palavras-gatilho

Acidorresistentes, infecções pulmonares, AIDS, profilaxia

Biologia e Virulência

- Bacilos fracamente Gram-positivos, fortemente acidorresistentes
- Parede celular rica em lipídios
- A doença se dá principalmente pela resposta do hospedeiro à infecção

Epidemiologia

- Distribuição mundial, mas a doença é vista mais comumente em países nos quais a tuberculose é menos comum
- Adquirida principalmente através da ingestão de água ou alimentos contaminados; a inalação de aerossóis infecciosos parece ter um papel menor na transmissão
- Os pacientes com maior risco para contrair a doença são os que estão imunocomprometidos (principalmente aqueles com AIDS) e os com doença pulmonar de longa duração

Doenças

• A doença inclui colonização assintomática, doença pulmonar crônica localizada, nódulo solitário ou doença disseminada, particularmente em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)

Diagnóstico

• A microscopia e cultura são sensíveis e específicas

Tratamento, Prevenção e Controle

- Infecções tratadas por período prolongado com claritromicina ou azitromicina combinada com etambutol e rifabutina
- A profilaxia em pacientes com AIDS que apresentam baixa contagem de células CD4 consiste em claritromicina, azitromicina ou rifabutina, e esse tratamento tem reduzido muito a incidência da doença

Nocardia

Palavras-gatilho

Acidorresistentes com coloração modificada, filamentosos, doença broncopulmonar ou cutânea, oportunista

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-positivos, parcialmente acidorresistentes, filamentosos; parede celular com ácido micólico
- Aeróbio estrito capaz de crescimento na maioria dos meios não seletivos para bactérias, fungos e micobactérias; no entanto, pode ser necessária incubação prolongada (2 dias ou mais)
- Virulência associada à habilidade de evitar morte intracelular
- A catalase e a superóxido dismutase inativam os metabólitos tóxicos de oxigênio (p.ex., peróxido de hidrogênio, superóxido)
- Fator corda previne morte intracelular em fagócitos por interferir na fusão dos fagossomos com lisossomos

Epidemiologia

- Distribuição mundial em solos ricos em matéria orgânica
- Infecções exógenas adquiridas por inalação (pulmonar) ou introdução traumática (cutânea)
- Patógeno oportunista que causa doenças mais frequentemente em pacientes imunocomprometidos com deficiência das células T (receptores de transplantes, pacientes com malignidades, pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana, pacientes em tratamento com corticosteroides)

Doenças

- As doenças primárias mais comuns são a broncopulmonar (p.ex., doença cavitária) ou as infecções cutâneas primárias (p.ex., micetoma, infecção linfocutânea, celulite, abcessos subcutâneos)
- Disseminação mais comum para o sistema nervoso central (p.ex., abcessos cerebrais) ou pele

Diagnóstico

- A microscopia é sensível e relativamente específica quando são encontrados micro-organismos com ramificações e parcialmente acidorresistentes
- A cultura é lenta, necessitando de incubação por até 1 semana; pode ser necessário uso de meios seletivos (p.ex., ágar-BCYE, *buffered charcoal yeast extract*) para isolar *Nocardia* em culturas mistas
- A identificação ao nível do gênero pode ser feita por meio de características micro e macroscópicas (ramificações, bacilos fracamente acidorresistentes formando colônias com hifas aéreas)
- A identificação do nível da espécie requer análise genômica para a maioria dos isolados

Tratamento, Prevenção e Controle

- As infecções são tratadas com antibióticos e cuidados apropriados de feridas
- Sulfametoxazol-trimetoprim (TMP-SMX) é utilizado como terapia inicial empírica para infecções cutâneas em
 pacientes imunocompetentes; a terapia para infecções graves e infecções cutâneas em pacientes imunocomprometidos
 deve incluir TMP-SMX combinado com amicacina para infecções pulmonares ou cutâneas, e TMP-SMX combinado
 com imipenem ou uma cefalosporina para infecções no sistema nervoso central; é recomendado tratamento
 prolongado (até 12 meses)
- A exposição não pode ser evitada devido à ubiquidade das nocárdias

Os gêneros discutidos neste capítulo são bacilos imóveis, não formadores de esporos, Gram-positivos aeróbios, **acidorresistentes** quanto à coloração (i.e., resistem à descoloração com soluções ácidas fracas a fortes) devido à presença de cadeias médias a longas de ácidos micólicos na sua parede celular. Essa propriedade de coloração é importante, pois apenas cinco gêneros de bactérias acidorresistentes são clinicamente importantes (Tabela 22-1). Todos os microorganismos acidorresistentes são bactérias de crescimento relativamente lento, exigindo incubação de 2 a 7 dias (*Nocardia, Rhodococcus, Gordonia, Tsukamurella*) até 1 mês ou mais (micobactérias). Até hoje, foram descritas mais de 350 espécies de bactérias acidorresistentes; no entanto, o número frequentemente associado à doença humana é relativamente limitado (Tabela 22-2). O espectro das infecções associadas ao gênero acidorresistente é extenso e inclui a colonização insignificante, infecções cutâneas, infecções sistêmicas e infecções oportunistas. Os

gêneros *Mycobacteria* e *Nocardia* constituirão a ênfase deste capítulo, porque essas são as bactérias acidorresistentes mais comumente responsáveis por doenças humanas.



Tabela 22-1

Bactérias Acidorresistentes Importantes

Micro- organismo	Derivação Histórica
Mycobacterium	myces, um fungo; bakterion, um bastão pequeno (bastão semelhante a fungo)
M. abscessus	abscessus, de abscesso (causa formação de abscessos)
M. avium	avis, de aves (causa doença semelhante à tuberculose em aves)
M. chelonae	chelonae, uma tartaruga (fonte inicial)
M. fortuitum	fortuitum, casual, acidental (refere-se ao fato de ser um patógeno oportunista)
M. haemophilum	haema, sangue; philos, amante (amantes de sangue; refere-se à necessidade de sangue ou hemina para o crescimento in vitro)
M. intracellulare	intra, dentro; cella, pequena sala (no interior das células; refere-se à localização intracelular desta e de todas as micobactérias)
M. kansasii	kansasii, de Kansas (onde o micro-organismo foi originalmente isolado)
M. leprae	leprae, de lepra (a causa da lepra)
M. marinum	marinum, de mar (bactéria relacionada a águas doce e salgada contaminadas)
M. tuberculosis	tuberculum, um pequeno inchaço ou tubérculo; osis (caracterizado por tubérculos; refere-se à formação de tubérculos nos pulmões de pacientes infectados)
Nocardia	Em homenagem ao veterinário francês Edmond Nocard
Rhodococcus	rhodo, rosa ou de cor vermelha; coccus, coco (coco de cor vermelha)
Gordonia	Em homenagem à microbiologista americana Ruth Gordon
Tsukamurella	Honrando o microbiologista japonês Michio Tsukamura, que descreveu a primeira amostra pertencente a esse gênero

Classificação de Determinadas Bactérias Acidorresistentes Patogênicas para Humanos

Micro-organismo	Patogenicidade	Frequência nos Estados Unidos	
Complexo Mycobacterium tuberculosis			
M. tuberculosis	Estritamente patogênico	Comum	
M. leprae	Estritamente patogênico	Incomum	
M. africanum	Estritamente patogênico	Raro	
M. bovis	Estritamente patogênico	Raro	
M. bovis BCG (cepa do bacilo de Calmette-Guérin)	Algumas vezes patogênico	Raro	
Micobactérias não Tuberculosas de Crescimento Lento			
Complexo M. avium	Normalmente patogênico	Comum	
M. kansasii	Normalmente patogênico	Comum	
M. marinum	Normalmente patogênico	Incomum	
M. simiae	Normalmente patogênico	Incomum	
M. szulgai	Normalmente patogênico	Incomum	
M. genavense	Normalmente patogênico	Incomum	
M. haemophilum	Normalmente patogênico	Incomum	
M. malmoense	Normalmente patogênico	Incomum	
M. ulcerans	Normalmente patogênico	Incomum	
M. scrofulaceum	Algumas vezes patogênico	Incomum	
M. xenopi	Algumas vezes patogênico	Incomum	
Micobactérias não Tuberculosas de Cre	scimento Rápido		
M. abscessus	Algumas vezes patogênico	Comum	
M. chelonae	Algumas vezes patogênico	Comum	
M. fortuitum	Algumas vezes patogênico	Comum	
M. mucogenicum	Algumas vezes patogênico	Comum	
Nocardia			
N. cyriacigeorgica	Normalmente patogênico	Comum	
N. farcinica	Normalmente patogênico	Comum	
N. abscessus	Normalmente patogênico	Incomum	
N. beijingensis	Normalmente patogênico	Incomum	
N. brasiliensis	Normalmente patogênico	Incomum	
N. nova	Normalmente patogênico	Incomum	
N. otitidiscaviarum	Normalmente patogênico	Incomum	
Nocardia spp.	Algumas vezes patogênico	Raro	
Rhodococcus equi	Normalmente patogênico	Comum	
Gordonia bronchialis	Algumas vezes patogênico	Raro	
G. otitidis	Algumas vezes patogênico	Raro	
G. sputi	Algumas vezes patogênico	Raro	
Gordonia spp.	Algumas vezes patogênico	Raro	
Tsukamurella pulmonis	Algumas vezes patogênico	Raro	
·	Algumas vezes patogênico	Raro	
T. tyrosinosolvens	Aiguilias vezes palogeilico	Raio	

Fisiologia e Estrutura das Micobactérias

As bactérias são classificadas no gênero *Mycobacterium* com base em: (1) sua acidorresistência, (2) presença de ácidos micólicos na parede celular, contendo 70 a 90 carbonos e (3) alto conteúdo (61%-71% mol) de guanina mais citosina (G + C) no seu ácido desoxirribonucleico (DNA). As micobactérias possuem uma complexa **parede celular, rica em lipídios,** que é responsável por muitas das propriedades características das bactérias (p.ex., acidorresistência; crescimento lento; resistência a detergentes, a antibióticos antibacterianos comuns e a resposta imune do hospedeiro; antigenicidade). As proteínas associadas à parede celular são antígenos biologicamente importantes, estimulando a resposta imune celular do paciente. Preparações extraídas e parcialmente purificadas dessas proteínas (**derivados de proteína purificada ou PPDs**) são utilizadas como reagentes de testes de pele para medir a exposição a *M. tuberculosis*.

As propriedades de crescimento e a morfologia das colônias são utilizadas para a classificação preliminar das micobactérias. Como observado anteriormente, a *M. tuberculosis* e as espécies intimamente relacionadas do complexo *M. tuberculosis* são bactérias de crescimento lento. As colônias dessas micobactérias ou não são pigmentadas ou apresentam uma ligeira coloração marrom (Fig. 22-1). As outras micobactérias, referidas como "micobactérias não tuberculosas" (NTMs), foram classificadas originalmente por Runyon, levando em consideração as suas taxas de crescimento (Tabela 22-2) e pigmentação. As micobactérias pigmentadas produzem intensamente **carotenoides amarelos**, que podem ser estimulados pela exposição à luz (micro-organismos fotocromogênicos, Fig. 22-2), ou são produzidos na ausência de luz (micro-organismos escotocromogênicos). O esquema da **classificação de Runyon** das NTMs consiste em quatro grupos: fotocromógenos de crescimento lento (p.ex., *M. gordonae* — um não patógeno comumente isolado), micobactérias não pigmentadas de crescimento lento (p.ex., *M. avium*, *M. intracellulare*) e micobactérias de crescimento rápido (p.ex., *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessos*, *M. mucogenicum*). Os métodos atualmente usados para a detecção e identificação rápidas de micobactérias tornaram esse esquema menos importante. Todavia, uma micobactéria pigmentada ou de crescimento rápido nunca deve ser confundida com *M. tuberculosis*.

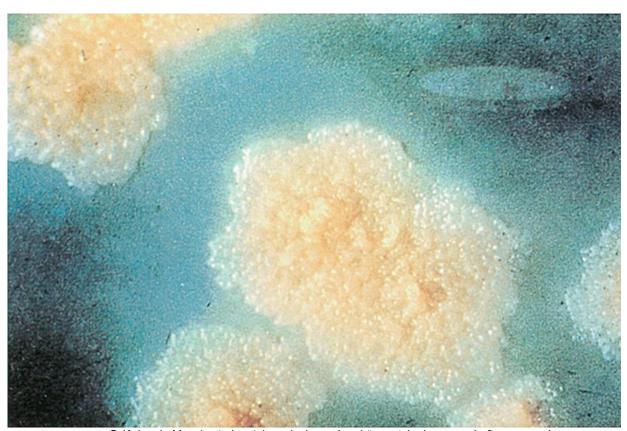


FIGURA 22-1 Colônias de *Mycobacterium tuberculosis* em ágar Löwenstein-Jensen após 8 semanas de incubação. (De Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM: *Bailey and Scott's diagnostic microbiology*, ed 9, St Louis, 1994, Mosby.)

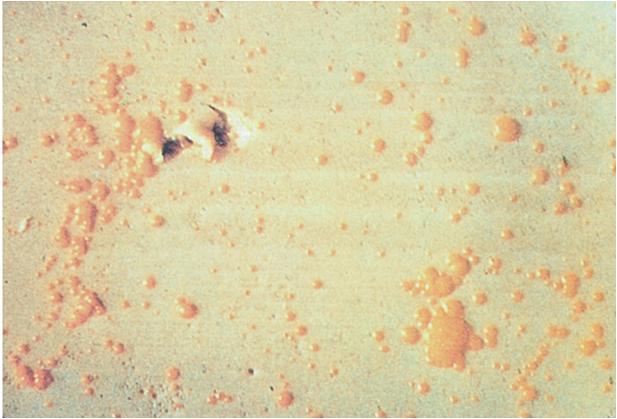


FIGURA 22-2 Colônias de *Mycobacterium kansasii* em ágar Middlebrook; o pigmento amarelo se desenvolve após breve exposição à luz.

Mycobacterium tuberculosis

Patogênese e Imunidade

O M. tuberculosis é um patógeno intracelular que é capaz de estabelecer infecção que perdura ao longo da vida. A manutenção da infecção persistente sem progressão para doença envolve um delicado equilíbrio entre o crescimento das bactérias e a regulação imunológica. No momento da exposição, o M. tuberculosis entra nas vias aéreas respiratórias, e as partículas infecciosas penetram nos alvéolos, onde são fagocitadas pelos macrófagos alveolares. Ao contrário da maioria das bactérias fagocitadas, o M. tuberculosis impede a fusão do fagossoma com os lisossomas (pelo bloqueio da molécula de ligação específica, autoantígeno 1 do endossoma primário [EEA1]). Ao mesmo tempo, o fagossoma é capaz de se fundir com outras vesículas intracelulares, permitindo o acesso a nutrientes e facilitando a replicação intravacuolar. As bactérias fagocitadas também são capazes de evitar a morte pelos macrófagos, mediada pelos intermediários reativos de nitrogênio formados entre o óxido nítrico e ânions superóxido, catabolizando cataliticamente os oxidantes que são formados. Então, nesse estado, as bactérias são capazes de evadir o sistema imunitário e replicar. No entanto, em resposta à infecção por M. tuberculosis, os macrófagos secretam interleucina (IL)-12 e fator de necrose tumoral (TNF)- α . Essas citocinas aumentam a inflamação localizada com o recrutamento de células T e células natural killer (NK) em direção à área dos macrófagos infectados, induzindo a diferenciação das células T em células TH1 (células T auxiliadoras), com secreção subsequente de interferon (IFN)-y. Na presença de IFN-y, os macrófagos infectados são ativados, levando ao aumento da fusão fagossoma-lisossoma e à morte intracelular. Além disso, o TNF- α estimula a produção de óxido nítrico e dos intermediários reativos de nitrogênio relacionados, levando ao aumento da morte intracelular. Os pacientes com produção diminuída de IFN-α ou TNF-γ, ou aqueles que apresentam defeitos nos receptores para essas citocinas, estão em maior risco de desenvolver infecções graves e progressivas por micobactérias.

A eficácia da eliminação bacteriana está, em parte, relacionada com o tamanho do foco da infecção. Os macrófagos alveolares, células epitelioides e **células gigantes de Langhans** (células epitelioides fundidas) com micobactérias intracelulares formam o cerne principal de uma massa necrótica, que é circundada por uma densa parede de macrófagos e células T, dos tipos CD4, CD8 e NK. Essa estrutura, o **granuloma**, evita a posterior disseminação das bactérias. Se uma pequena carga antigênica estiver presente no momento em que os macrófagos são estimulados, o granuloma é pequeno e as bactérias são destruídas com dano tecidual mínimo. No entanto, se estiverem presentes muitas bactérias, os grandes granulomas necróticos ou caseosos tornam-se encapsulados com fibrina, que protege eficazmente as bactérias da morte pelos macrófagos. As bactérias podem permanecer dormentes nesse estágio ou podem ser reativadas anos mais tarde, quando a responsividade imunológica do paciente diminui como resultado da idade avançada ou de doença ou terapia imunossupressora. Esse processo é a razão pela qual, em pacientes expostos a *M. tuberculosis*, a doença pode não se desenvolver até idades mais avançadas.

Epidemiologia

Embora a tuberculose possa ser estabelecida em primatas e animais de laboratório, como as cobaias, **os humanos são o único reservatório natural**. A doença é disseminada por contato íntimo pessoa a pessoa através da inalação de aerossóis infecciosos. As partículas grandes são aprisionadas nas superfícies mucosas e removidas pela ação ciliar da árvore respiratória. Porém, as partículas pequenas, contendo de um a três bacilos da tuberculose, podem alcançar os espaços alveolares e estabelecer infecção.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que um terço da população mundial esteja infectado com *M. tuberculosis*. Em 2012, houve 8,6 milhões de novos casos de tuberculose e 1,3 milhões de mortes. Apesar dessas estatísticas sombrias, o número de novos casos mundiais está diminuindo e a taxa de mortalidade decresceu 45% entre 1990 e 2012. As regiões com maior incidência da doença são a China, Índia, Leste da Europa, Paquistão, África Subsaariana e África do Sul. Nos Estados Unidos, a incidência de tuberculose tem decrescido continuamente desde 1992 (Fig. 22-3). Foi reportado um total de 9.945 casos em 2012 (3,2 casos por 100.000 indivíduos), sendo quase 60% das infecções em pessoas nascidas fora do país. Outras populações com risco aumentado para doença por *M. tuberculosis* são as pessoas desabrigadas, usuários de álcool e drogas, presidiários e indivíduos infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Como é difícil erradicar a doença nesses pacientes, a disseminação da infecção para outras populações, incluindo os trabalhadores dos cuidados de saúde, constitui um problema de saúde pública significativo. Isso é particularmente verdadeiro para o *M. tuberculosis* resistente aos fármacos, pois os pacientes que recebem tratamento inadequado podem permanecer infecciosos por um longo período.

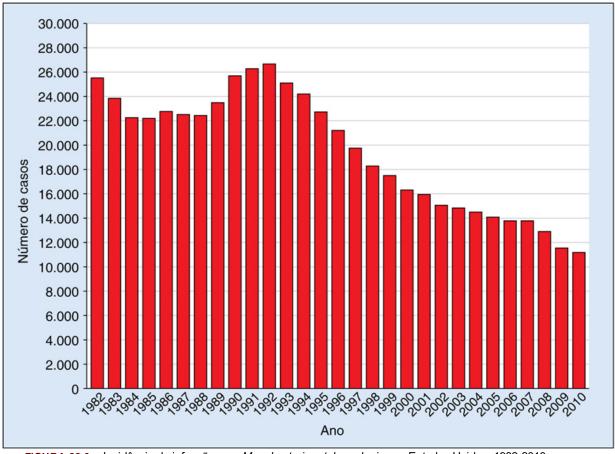


FIGURA 22-3 Incidência de infecções por Mycobacterium tuberculosis nos Estados Unidos, 1982-2010.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 22-1)

Apesar de a tuberculose poder envolver qualquer órgão, a maioria das infecções em pacientes imunocompetentes é restrita aos pulmões. O foco pulmonar inicial se localiza nos campos pulmonares médio ou inferior, onde os bacilos da tuberculose podem se multiplicar livremente. A imunidade celular do paciente é ativada, e a replicação das micobactérias cessa na maioria dos pacientes dentro de 3 a 6 semanas após a exposição ao micro-organismo. Cerca de 5% dos pacientes expostos ao *M. tuberculosis* progridem para doença ativa dentro de 2 anos, e outros 5% apresentam doença em algum momento mais tarde na vida.

O risco da tuberculose ativa é significativamente aumentado em indivíduos infectados por HIV. Infelizmente, esse problema é complicado pelo desenvolvimento de cepas de *M. tuberculosis* resistentes aos antimicrobianos nesta população. Isso foi ilustrado pelo relato de Gandhi et al. (*Lancet* 368:1575-1580, 2006), que estudaram a prevalência da tuberculose na África do Sul de janeiro de 2005 a março de 2006. Eles identificaram 475 pacientes com cultura confirmada para tuberculose, sendo que 39% destes apresentaram cepas com multirresistência aos antimicrobianos (MDR TB) e 6% apresentaram cepas extremamente resistentes aos antimicrobianos (XDR TB). Todos os pacientes com XDR TB estavam coinfectados com HIV, e 98% desses pacientes morreram. A alta prevalência de MDR TB e a evolução de XDR TB colocam um sério desafio para os programas de tratamento da tuberculose e enfatizam a necessidade de testes rápidos para o diagnóstico.

A probabilidade de a infecção progredir para doença ativa é uma função tanto da dose infecciosa quanto da competência imune do paciente. Por exemplo, a doença ativa se desenvolve em 1 ano após a exposição em aproximadamente 10% dos pacientes que são infectados pelo HIV e apresentam uma contagem baixa de células T CD4; em geral, aparece antes do início de outras infecções oportunistas; tem o dobro da probabilidade de disseminar para locais extrapulmonares; e pode progredir rapidamente para a morte. De fato, a tuberculose é a principal causa de morte em pacientes infectados pelo HIV. Como estes têm a imunidade comprometida, comumente apresentam-se com doença assintomática, subclínica e radiografia torácica negativa, apesar da disseminação generalizada das bactérias.

Os sinais e sintomas clínicos da tuberculose refletem o local da infecção, com a doença primária usualmente restrita ao trato respiratório inferior. A doença é insidiosa no início. Os pacientes tipicamente apresentam queixas não específicas de mal-estar, perda de peso, tosse e suores noturnos. O escarro pode ser escasso ou sanguinolento e purulento. A produção de escarro com raios de sangue (hemoptise) está associada a destruição tecidual (p.ex., **doença cavitária**). O diagnóstico clínico é suportado por: (1) evidência radiográfica de doença pulmonar (Fig. 22-4); (2) reatividade positiva no teste da pele; e (3) detecção laboratorial da micobactéria, seja por microscopia ou em culturas. Um ou ambos os lobos superiores dos pulmões estão em geral envolvidos em pacientes com doença ativa que inclui pneumonite ou formação de abscesso e cavitação.

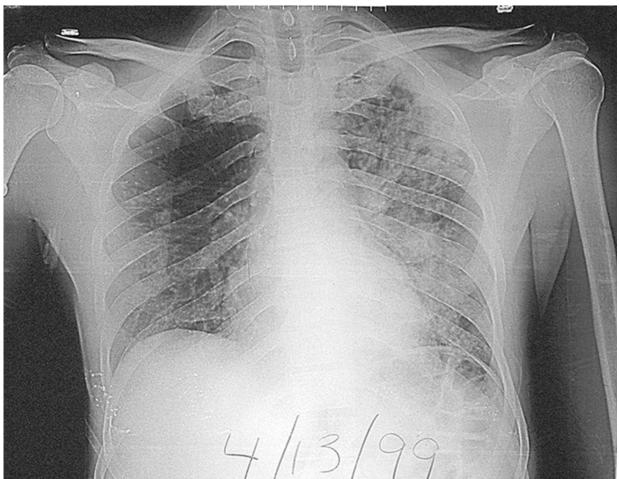


FIGURA 22-4 Tuberculose pulmonar.

A tuberculose extrapulmonar pode ocorrer como resultado da disseminação hematogênica dos bacilos durante a fase inicial de multiplicação. Pode não haver evidência de doença pulmonar em pacientes com **tuberculose disseminada.**

Diagnóstico Laboratorial (Quadro 22-1)

Imunodiagnóstico

O teste tradicional para avaliar a resposta do paciente à exposição ao *M. tuberculosis* é o **teste cutâneo da tuberculina**. A reatividade a uma injeção intradérmica de antígenos micobacterianos (derivados de proteína purificada [PPD]) pode diferenciar entre indivíduos infectados e não infectados, com uma reação positiva desenvolvendo-se normalmente 3 a 4 semanas após a exposição ao *M. tuberculosis*. A única evidência de infecção por micobactérias na maioria dos pacientes é uma reação positiva ao teste cutâneo que persiste por toda a vida e a evidência radiográfica de calcificação de granulomas nos pulmões ou em outros órgãos. Nesse teste, uma quantidade específica do antígeno (5 unidades de tuberculina de PPD) é inoculada na camada intradérmica da pele do paciente. A reatividade do teste cutâneo (definida pelo diâmetro da área de endurecimento) é medida 48 horas mais tarde. Os pacientes infectados por *M. tuberculosis* podem não apresentar uma resposta ao teste cutâneo da tuberculina se eles forem anérgicos (não reativos a antígenos; particularmente verdadeiro para pacientes infectados pelo HIV); desse modo, devem sempre ser utilizados antígenos-controle com testes de tuberculina. Além disso, os indivíduos de países onde a vacinação com *M. bovis* atenuado (**bacilo de Calmette-Guérin [BCG])** é generalizada terão uma reação positiva no teste cutâneo, de modo que esse teste não é útil.



Quadro 22-1 Diagnóstico Laboratorial de Doenças Micobacterianas

Imunodiagnóstico

Teste cutâneo da tuberculina Ensaios de liberação de interferon-γ

Microscopia

Coloração de Ziehl-Neelsen (acidorresistência a quente) Coloração de Kinyoun (acidorresistência a frio) Coloração acidorresistente do fluorocromo de Truant

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Testes de amplificação de ácidos nucleicos

Cultura

Meio contendo ovo ou ágar Meio líquido (meio em caldo)

Identificação

Propriedades morfológicas Reações bioquímicas Análise dos lipídios da parede celular Sondas de ácidos nucleicos Sequenciamento de ácidos nucleicos

Os ensaios *in vitro* de liberação de IFN-γ foram introduzidos como uma alternativa ao teste cutâneo com PPD. Os testes usam imunoensaios para medir o IFN-γ produzido por células T sensibilizadas, estimuladas por antígenos de *M. tuberculosis*. Se um indivíduo foi previamente infectado por *M. tuberculosis*, a exposição das células T sensibilizadas presentes no sangue total aos antígenos específicos de *M. tuberculosis* resulta na produção de IFN-γ. Os ensaios iniciais que usavam PPD como antígenos estimuladores têm sido substituídos por testes de segunda geração que utilizam antígenos mais específicos (i.e., alvo antigênico precocemente secretado-6 [ESAT-6], proteína 10 de filtrado de cultura [CFP-10]) e podem ser utilizados para diferenciar infecções causadas por *M. tuberculosis* de vacinação por BCG. Embora os testes sejam sensíveis e altamente específicos, a complexidade técnica dos ensaios atualmente limita a sua utilização.

Microscopia

A detecção microscópica de bactérias acidorresistentes em espécimes clínicos é a maneira mais rápida de confirmar a doença causada por micobactérias. O espécime clínico é corado com carbolfucsina (métodos de **Ziehl-Neelsen** ou **Kinyoun**) ou com corantes fluorescentes auramina-rodamina (método **fluorocromo de Truant**), descorado com uma solução álcoolácido e, então, contracorado. Os espécimes são examinados ao microscópio óptico ou, se forem usados corantes fluorescentes, ao do tipo fluorescente (Fig. 22-5). O **método de fluorocromo é o mais sensível**, porque o espécime pode ser examinado rapidamente com pequeno aumento para pesquisa de áreas fluorescentes, e depois a presença das bactérias acidorresistentes pode ser confirmada com maior aumento.

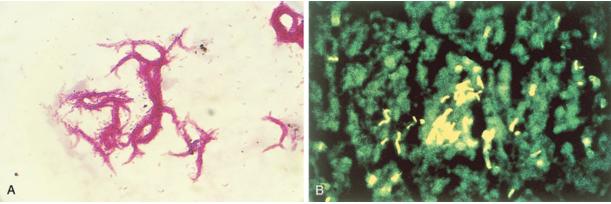


FIGURA 22-5 Coloração álcool-acidorresistente de *Mycobacterium tuberculosis*. **A**, Coloração com carbolfucsina usando o método Kinyoun. **B**, Coloração com os corantes fluorescentes auramina e rodamina usando o método de fluorocromo Truant.

Em cerca de metade de todos os espécimes positivos nas culturas, as bactérias acidorresistentes são detectadas por microscopia. A sensibilidade desse teste é alta para (1) espécimes respiratórios (sobretudo pacientes com evidência radiográfica de cavitação) e (2) espécimes dos quais muitas micobactérias são isoladas em cultura. Assim, uma reação positiva de coloração acidorresistente corresponde a uma alta infectividade. A especificidade do teste é superior a 95% quando é realizado cuidadosamente.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Ainda que a microscopia forneça informação útil relacionada com a presença de doença por micobactérias, a mesma não consegue identificar a espécie de micobactéria particular envolvida. Por essa razão, foram desenvolvidas técnicas para detectar sequências específicas de ácidos nucleicos de micobactérias presentes em espécimes clínicos. Uma vez que pode estar presente apenas um baixo número de bactérias, as empresas comerciais desenvolveram uma variedade de técnicas de amplificação de ácidos nucleicos (p.ex., reação em cadeia da polimerase [PCR]). Os testes comerciais atualmente utilizados são específicos para *M. tuberculosis*, sendo que um ensaio disponível hoje em dia pode detectar o *M. tuberculosis* em amostras clínicas, bem como determinar a suscetibilidade à rifampicina, um marcador substituto para cepas multimedicamento-resistentes. Embora esse teste seja caro e o uso em países com recursos limitados seja subsidiado por programas de financiamento globais, ele permite a análise rápida e rotineira em países com alta incidência de doença, e onde microscopia é imprecisa e cultura é impraticável.

Cultura

As micobactérias que causam doença pulmonar, particularmente em pacientes com evidência de cavitação, são abundantes nas secreções respiratórias (p.ex., 10^8 bacilos por mililitro ou mais). A recuperação do micro-organismo é virtualmente assegurada em pacientes nos quais são coletados espécimes respiratórios pela manhã, durante 3 dias consecutivos; no entanto, é mais difícil isolar o *M. tuberculosis* de outros locais em pacientes com doença disseminada (p.ex., trato genitourinário, tecidos, líquido cefalorraquidiano). Em tais casos, devem ser coletadas amostras adicionais para culturas, e deve ser processado um grande volume de fluido ou tecido.

O crescimento *in vitro* de micobactérias é complicado pelo fato da maioria das amostras crescer lentamente e poder ser obscurecida por bactérias de crescimento rápido, que normalmente colonizam os indivíduos. Assim, espécimes como o escarro são inicialmente tratados com um **reagente descontaminante** (p.ex., hidróxido de sódio a 2%) para eliminar microorganismos que poderiam confundir o resultado. As micobactérias podem tolerar tratamentos breves com álcali, que mata as bactérias de crescimento rápido e permite o isolamento seletivo das micobactérias. A descontaminação prolongada do espécime mata as micobactérias, de modo que o procedimento não é realizado quando são testados espécimes normalmente estéreis ou quando é esperado um baixo número de micobactérias.

Os espécimes inoculados em meios com base de ovo (p.ex., **Löwenstein-Jensen**) e com base de ágar-ágar (p.ex., **Middlebrook**) geralmente levam 4 semanas ou mais para que o *M. tuberculosis* seja detectado. No entanto, esse período foi reduzido em cerca de 2 semanas com a utilização de **culturas em caldo** especialmente formuladas que suportam o crescimento rápido da maioria das micobactérias. A capacidade do *M. tuberculosis* crescer rapidamente em culturas de caldo vem sendo usada para realizar testes rápidos de suscetibilidade. A técnica **MODS**, ou **observação microscópica de suscetibilidade aos fármacos**, utiliza um microscópio óptico invertido para examinar placas de 24 orifícios inoculadas com caldo Middlebrook e escarro descontaminado. O crescimento do *M. tuberculosis* pode ser detectado como emaranhados ou cordas de crescimento no caldo, geralmente após 1 semana de incubação. A incorporação de antimicobacterianos no caldo possibilita testes de suscetibilidade diretos e rápidos com espécimes clínicos. Essa técnica está amplamente disponível em laboratórios servindo países com recursos limitados, onde cepas de *M. tuberculosis* resistentes a fármacos são disseminadas.

Identificação

As propriedades de crescimento e a morfologia das colônias podem ser utilizadas para a identificação preliminar das espécies mais comuns de micobactérias. A identificação definitiva das micobactérias pode ser realizada utilizando-se uma

variedade de técnicas. O método-padrão para a identificação das micobactérias eram os testes bioquímicos; porém, os resultados não estão disponíveis por até 3 semanas ou mais, e várias espécies não podem ser diferenciadas por essa abordagem. Atualmente, para a identificação das micobactérias, são utilizadas as sondas moleculares espécie-específicas, a amplificação de genes alvo espécie-específicos (p.ex., gene 16S rRNA, gene SecA) e, mais recentemente, a espectrometria de massa. É provável que a espectrometria de massa se torne o teste de identificação de escolha devido ao seu rápido período até à obtenção de resultados (< 1 hora), baixo custo e capacidade para identificar virtualmente todas as espécies de microorganismos acidorresistentes.

Tratamento, Prevenção e Controle

Tratamento

O tratamento das infecções por *M. tuberculosis*, ao contrário do tratamento para a maioria das outras infecções bacterianas, é complexo. As micobactérias de crescimento lento são resistentes à maioria dos antibióticos utilizados para tratar outras infecções bacterianas, e, em geral, os pacientes devem tomar vários antibióticos por um longo período de tempo (p.ex., um mínimo de 6 a 9 meses), ou cepas resistentes aos antibióticos se desenvolverão. Em 1990, os primeiros surtos de *M. tuberculosis* multirresistentes (MDR-TB; resistentes pelo menos à isoniazida e à rifampicina) foram observados em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e em indivíduos desabrigados em Nova York e Miami. Embora nos Estados Unidos tenha havido uma redução das infecções por essas cepas resistentes, a sua prevalência tem aumentado dramaticamente nos países com recursos limitados. Além disso, emergiram cepas de *M. tuberculosis* altamente resistentes, chamadas TB extremamente resistentes aos fármacos (XDR), na maioria das regiões do mundo. Essas cepas, definidas como MDR-TB, que são resistentes a fluoroquinolonas e a pelo menos um dos fármacos de segunda linha (p.ex., canamicina, amicacina, capreomicina), são potencialmente intratáveis.

Os diferentes regimes de tratamento que foram desenvolvidos para a tuberculose sensível e resistente aos fármacos são demasiado complexos para rever aqui exaustivamente (consulte, em inglês, as referências bibliográficas e o site do Centers for Disease Control and Prevention [CDC], http://www.cdc.gov/tb/). A maioria dos regimes terapêuticos inicia com 2 meses de isoniazida (isonicotinil-hidrazina [INH]), etambutol, pirazinamida e rifampicina, seguidos de 4 a 6 meses de INH e rifampicina, ou combinação de fármacos alternativos. As modificações para esse esquema de tratamento são determinadas pela suscetibilidade aos fármacos da cepa e pela população de pacientes.

Quimioprofilaxia

A American Thoracic Society e o CDC examinaram diversos regimes profiláticos para serem utilizados em pacientes (HIV-positivos e HIV-negativos) expostos ao *M. tuberculosis*. Os regimes recomendados incluem uma dose diária ou duas vezes na semana de INH por 6 a 9 meses, ou doses diárias de rifampicina por 4 meses. Os pacientes que foram expostos ao *M. tuberculosis* resistente a fármacos devem receber profilaxia com pirazinamida combinada com etambutol ou levofloxacina por 6 a 12 meses.

Imunoprofilaxia

A vacinação com *M. bovis* atenuado (**BCG**) é comumente usada em países nos quais a tuberculose é endêmica e responsável por morbidade e mortalidade significativas. Essa prática pode levar a uma redução importante na incidência da tuberculose se a BCG for administrada em indivíduos jovens (é menos eficaz em adultos). Infelizmente, a imunização com BCG não pode ser utilizada em pacientes imunocomprometidos (p.ex., aqueles com infecção por HIV). Assim, é improvável que seja útil em países com uma alta prevalência de infecções por HIV (p.ex., os do continente africano), ou para controlar a disseminação de *M. tuberculosis* resistente aos antimicrobianos. Outro problema relacionado com a imunização com BCG é o fato de se desenvolver uma reatividade positiva ao teste cutâneo em todos os pacientes, e esta poder persistir por um período prolongado. No entanto, a reatividade ao teste cutâneo geralmente é baixa; portanto, um teste cutâneo fortemente reativo (p.ex., maior que 20 mm de endurecimento) geralmente é significativo para uma exposição recente ao *M. tuberculosis*. Os testes de liberação de IFN-γ de segunda geração não são afetados pela imunização com BCG, podendo ser usados na triagem dessa população. A imunização com BCG não é amplamente utilizada nos Estados Unidos ou em outros países nos quais a incidência da tuberculose é baixa.

Controle

Pelo fato de um terço da população mundial estar infectado por *M. tuberculosis*, a erradicação dessa doença é altamente improvável. No entanto, a doença pode ser controlada com uma combinação de vigilância ativa, intervenções terapêuticas e profiláticas e monitoramento cuidadoso dos casos.

Outras Micobactérias de Crescimento Lento

A lepra (também chamada de **doença de Hansen**) é causada pelo *Mycobacterium leprae*. A lepra foi descrita pela primeira vez em 600 a.C. e foi reconhecida em civilizações antigas da Índia, Egito e China. A **prevalência global da lepra diminuiu dramaticamente** com a utilização generalizada de terapia eficaz. Mais de 5 milhões de casos foram documentados em 1985 e menos de 300.000 casos 20 anos depois. Atualmente, 90% dos casos são observados no Brasil, Madagascar, Moçambique, Tanzânia e Nepal. Nos Estados Unidos, a lepra é incomum, com apenas 64 casos relatados em 2013. A maioria dos casos

ocorre na Califórnia e Havaí e, principalmente, em imigrantes do México, Ásia, África e Ilhas do Pacífico. Curiosamente, a lepra é endêmica em **tatus** encontrados no Texas e Louisiana, produzindo uma doença semelhante à forma lepromatosa da lepra em humanos, altamente infecciosa. Dessa maneira, estes tatus representam um potencial foco endêmico nesse país.

A lepra é disseminada por contato pessoa a pessoa. Embora se desconheça qual a via mais importante de infecção, acredita-se que o *M. leprae* seja disseminado pela inalação de aerossóis infecciosos ou pelo contato da pele com secreções respiratórias ou exsudados de feridas. Como as bactérias se multiplicam muito lentamente, o período de incubação é prolongado, sendo que os sintomas se desenvolvem até 20 anos após a infecção. A apresentação clínica da lepra varia da forma tuberculoide à forma lepromatosa (Tabela 22-3). Os pacientes com **lepra tuberculoide** (também chamada **doença de Hansen paucibacilar**) apresentam uma forte reação imune celular às bactérias, com a indução da produção de citocinas que medeia a ativação de macrófagos, fagocitose e eliminação bacilar. A forma tuberculoide (Fig. 22-6) é caracterizada por máculas cutâneas hipopigmentadas e diagnosticada pela reatividade nos testes cutâneos aos antígenos micobacterianos (lepromina); as colorações acidorresistentes são geralmente negativas. O *M. leprae* não consegue crescer em culturas sem a presença de células. Os pacientes com **lepra lepromatosa (doença de Hansen multibacilar)** apresentam uma forte resposta dos anticorpos, mas um defeito específico na resposta celular aos antígenos de *M. leprae*; assim, tipicamente, é observada uma abundância de bactérias nos macrófagos da derme e nas células de Schwann dos nervos periféricos. Tal como esperado, essa é a forma mais infecciosa de lepra. A forma lepromatosa (Fig. 22-7) está associada a lesões cutâneas deformadoras, nódulos, placas, espessamento da derme e envolvimento da mucosa nasal.



Tabela 22-3

Manifestações Clínicas e Imunológicas da Lepra

Características	Lepra Tuberculoide	Lepra Lepromatosa
Lesões na pele	Poucas placas eritematosas ou hipopigmentadas com centros lisos e bordas elevadas demarcadas; dano do nervo periférico com perda sensorial completa; aumento visível dos nervos	Muitas máculas eritematosas, pápulas ou nódulos; destruição tecidual extensa (p.ex., cartilagem nasal, ossos, orelhas); envolvimento nervoso difuso com perda sensorial heterogênea; ausência de aumento do nervo
Histopatologia	Infiltração de linfócitos ao redor de um centro de células epiteliais; presença de células de Langhans; nenhum ou poucos bacilos acidorresistentes observados	Predominantemente macrófagos "espumosos" com poucos linfócitos; ausência de células de Langhans; numerosos bacilos acidorresistentes nas lesões e nos órgãos internos
Infectividade	Baixa	Alta
Resposta imune	Hipersensibilidade tardia em resposta à lepromina	Não reativa à lepromina
Níveis de imunoglobulina	Normal	Hipergamaglobulinemia
Eritema nodoso	Ausente	Normalmente apresentam



FIGURA 22-6 Lepra tuberculoide. As lesões tuberculoides primárias são caracterizadas por máculas anestéticas com hipopigmentação. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: *Infectious diseases*, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)



FIGURA 22-7 Lepra lepromatosa. Infiltração difusa da pele por múltiplos nódulos de tamanhos variáveis, cada um deles com muitas amostras bacterianas. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: Infectious diseases,ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)

Na última década, o tratamento da lepra reduziu, com sucesso, a incidência global da doença. Os regimes terapêuticos preconizados pela OMS (http://WHO.int/lep) distinguiram os pacientes com a forma tuberculoide (paucibacilar) daqueles com a forma lepromatosa (multibacilar). A forma paucibacilar deve ser tratada com rifampicina e dapsona por um período

mínimo de 6 meses, enquanto na forma multibacilar deve ser adicionada a clofazimina ao regime e o tratamento deve ser estendido por 12 meses. Deve-se ressaltar que muitos pesquisadores acreditam ser necessária uma terapia muito mais prolongada para um ótimo controle dos pacientes. O tratamento com um único fármaco não deve ser utilizado em qualquer das formas.

Os membros do complexo *Mycobacterium avium* estão entre as espécies acidorresistentes patogênicas mais comuns, particularmente em pacientes imunocomprometidos, pelo que é importante uma breve discussão sobre a taxonomia desse complexo. Na atualidade, estão identificadas duas espécies, *M. avium* e *M. intracellulare*, e quatro subespécies (Tabela 22-4). A maioria dos relatos na literatura refere-se ao *M. avium* ou ao complexo *M. avium* como uma causa de doença humana; no entanto, parece que as cepas responsáveis pela doença aviária (*M. avium* subsp. *avium*) são diferentes das cepas responsáveis pela maioria das doenças humanas (*M. avium* subsp. *hominissuis*). O *M. avium* subsp. *silvaticum* não foi implicado na doença humana e uma grande parte da literatura tem debatido o papel do *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, agente etiológico da enterite granulomatosa crônica em ruminantes (doença de Johne), como causa de enterite granulomatosa crônica em seres humanos (doença de Crohn). Essas diferenças taxonômicas são importantes para a compreensão da epidemiologia e patogênese das cepas do complexo *M. avium* responsáveis pela doença humana. No entanto, para a finalidade deste texto, serão utilizados apenas os termos *M. avium* (*M. avium* subsp. *hominissuis*) e complexo *M. avium* (*M. avium* e *M. intracellulare*).



Tabela 22-4

Doenças do Complexo Mycobacterium avium

Espécie	Doença
M. avium subsp. avium	Tuberculose aviária
M. avium subsp. hominissuis	Doenças em seres humanos e porcos; doença disseminada em pacientes infectados pelo HIV; linfadenite cervical em crianças; doença pulmonar crônica em adolescentes com fibrose cística e em adultos mais velhos com doença pulmonar subjacente
M. avium subsp. silvaticum	Doença em pombos da mata
M. avium subsp. paratuberculosis	Doença entérica granulomatosa crônica em ruminantes (doença de Johne) e possivelmente em seres humanos (doença de Crohn)
M. intracellulare	Doença pulmonar em pacientes imunocompetentes

Ambas as espécies do complexo *M. avium* (MAC, um termo comumente usado nos dias atuais) produzem doença em pacientes imunocompetentes, enquanto a doença em pacientes infectados por HIV é principalmente causada por *M. avium*. Antes da epidemia do HIV, o isolamento dos micro-organismos em espécimes clínicos representava tipicamente colonização transitória ou, de modo menos comum, doença pulmonar crônica. A doença pulmonar em pacientes imunocompetentes se apresenta de três formas distintas. Com mais frequência, a doença é observada em homens de meiaidade ou mais velhos, com história de tabagismo e **doença pulmonar subjacente**. Esses pacientes apresentam tipicamente uma doença cavitária de evolução lenta que se assemelha à tuberculose na radiografia de tórax. A segunda forma de infecção por MAC é observada em mulheres idosas e não fumantes. Essas pacientes apresentam infiltrados na língula ou no lobo médio com aparência nodular heterogênea na radiografia e bronquiectasia associada (brônquios cronicamente dilatados). Essa forma da doença é indolente e está associada a morbidade e mortalidade significativas. Foi postulado que essa doença é observada principalmente em mulheres idosas exigentes, que suprimem cronicamente o seu reflexo de tosse, o que leva a alterações inflamatórias não específicas nos pulmões e as predispõem à superinfecção por MAC. Essa doença específica é chamada de **síndrome de Lady Windermere**, o nome da personagem principal de uma peça de Oscar Wilde. A terceira forma da doença por MAC é a formação de um **nódulo pulmonar solitário**. O complexo *M. avium* é a espécie de micobactéria que mais comumente causa esses nódulos pulmonares solitários.

Um espectro diferente da doença desenvolve-se em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Ao contrário da doença em outros grupos de pacientes, a infecção por MAC em pacientes com AIDS é tipicamente disseminada, sendo que virtualmente nenhum órgão é poupado (Caso Clínico 22-2). A magnitude dessas infecções é notável; os tecidos de alguns pacientes ficam literalmente preenchidos por micobactérias (Fig. 22-8), apresentando centenas a milhares de bactérias por mililitro de sangue. As infecções disseminadas fulminantes causadas por *M. avium* são particularmente comuns nos pacientes que estão em estágios terminais dos seus distúrbios imunes, quando a sua contagem de linfócitos T CD4 diminui para menos de 10 células/mm³. Felizmente, com a terapia antirretroviral mais eficaz e o uso rotineiro de antibióticos profiláticos, a infecção por *M. avium* em pacientes infectados por HIV tornou-se muito menos comum. Embora alguns pacientes com AIDS desenvolvam a doença por *M. avium* após exposição pulmonar (p.ex., aerossóis infecciosos de água contaminada), acredita-se que a maior parte das infecções progride após ingestão da bactéria. A transmissão pessoa a pessoa ainda não foi demonstrada. Após a exposição às micobactérias, a replicação é iniciada nos linfonodos localizados, seguida da disseminação sistêmica. As manifestações clínicas da doença não são observadas até que a massa das bactérias em replicação impeça a função orgânica normal.

Caso Clínico 22-2 Infecções por Mycobacterium avium

Woods e Goldsmith (*Chest* 95:1355-1357, 1989) descreveram um paciente com AIDS avançada que morreu por infecção disseminada causada por *M. avium*. O paciente era um homem de 27 anos que apresentou inicialmente, em outubro de 1985, um histórico de 2 semanas de dispneia progressiva e tosse não produtiva. No lavado broncoalveolar foi detectado *Pneumocystis* e a sorologia confirmou que o paciente tinha infecção pelo HIV. Ele foi tratado com sucesso com sulfametoxazol-trimetoprim e recebeu alta. O paciente permaneceu estável até maio de 1987, quando apresentou febre persistente e dispneia. Na semana seguinte, desenvolveu dor torácica subesternal severa e um atrito de fricção pericárdica. O ecocardiograma revelou uma pequena efusão. O paciente deixou o hospital contra a vontade médica, mas retornou uma semana mais tarde com uma tosse persistente, febre, dor no tórax e no braço esquerdo. Foi realizada uma periocardiocentese diagnóstica, e foram aspirados 220 ml de fluido. Suspeitou-se de pericardite tuberculosa, e foi iniciada terapia antimicobacteriana apropriada. No entanto, nas 3 semanas seguintes, o paciente desenvolveu insuficiência cardíaca progressiva e faleceu. O *M. avium* foi isolado do fluido pericárdico, bem como das culturas de autópsia do pericárdio, baço, fígado, glândulas adrenais, rins, intestino delgado, linfonodos e glândula hipófise. Embora a pericardite causada por *M. avium* não fosse comum, a extensiva disseminação de micobactérias em pacientes com AIDS avançada era comum antes da profilaxia com azitromicina se tornar amplamente utilizada.

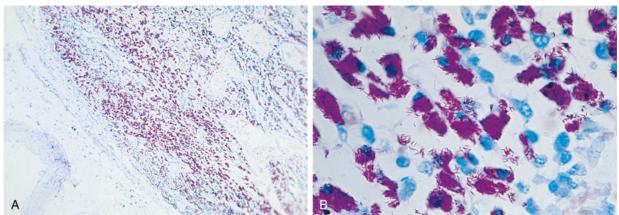


FIGURA 22-8 Tecido de um paciente com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), infectado por complexo *Mycobacterium avium*, fotografado em aumento baixo (**A**) e alto (**B**).

O complexo *M. avium* e muitas outras micobactérias de crescimento lento são resistentes aos agentes antimicobacterianos comuns. Um regime atualmente recomendado para as infecções causadas por MAC consiste em claritromicina ou azitromicina, combinada com etambutol e rifampicina. A duração do tratamento e a seleção final dos fármacos para tais espécies e outras micobactérias de crescimento lento são determinadas (1) pela resposta à terapia e (2) pelas interações entre esses fármacos e outros fármacos que o paciente esteja recebendo (p.ex., interações tóxicas e farmacocinéticas desses fármacos com inibidores de protease usados para tratar a infecção por HIV). Para obter informações adicionais sobre o tratamento de infecções por complexo *M. avium* e outras NTM consulte a publicação de Griffith et al. citada nas Referências Bibliográficas. Como as infecções intracelulares pelo complexo *M. avium* são comuns em pacientes com AIDS, a quimioprofilaxia é recomendada para aqueles cujas contagens de células T CD4 diminuem para menos de 50 células/μL. A profilaxia com claritromicina ou azitromicina é recomendada. As combinações desses fármacos com a rifabutina têm sido utilizadas, mas são geralmente mais tóxicas e não mais eficazes que o agente único.

Muitas outras micobactérias de crescimento lento podem causar doença humana, e novas espécies continuam a ser relatadas, à medida que são desenvolvidos melhores métodos de testes diagnósticos. O espectro das doenças produzidas por essas micobactérias também continua a se expandir, em grande parte porque as doenças como a AIDS, doenças malignas e transplantes de órgãos com uso concomitante de fármacos imunossupressores criaram uma população de pacientes que são altamente suscetíveis a micro-organismos com potencial de virulência relativamente baixo. Algumas micobactérias produzem doença idêntica à tuberculose pulmonar (p.ex., *Mycobacterium bovis, M. kansasii*), outras espécies comumente causam infecções localizadas no tecido linfático (*Mycobacterium scrofulaceum*), e outras, que crescem de forma ótima em temperaturas frias, produzem principalmente infecções cutâneas (*Mycobacterium ulcerans, M. marinum, Mycobacterium haemophilum*). No entanto, a doença disseminada pode ser observada em pacientes com AIDS infectados por essas mesmas espécies, assim como por micobactérias relativamente incomuns (p.ex., *Mycobacterium genavense, Mycobacterium simiae*). Com a exceção do *M. bovis* e de outras micobactérias estreitamente relacionadas com o *M. tuberculosis*, a disseminação pessoa a pessoa dessas micobactérias não ocorre.

Micobactérias de Crescimento Rápido

Como discutido anteriormente, as NTM podem ser subdivididas em espécies de crescimento lento e espécies de crescimento rápido (crescimento em < 7 dias). Essa distinção é importante, porque as espécies de crescimento rápido apresentam um potencial de virulência relativamente baixo, coram-se de forma irregular com as colorações tradicionais para micobactérias e são mais suscetíveis aos antibióticos antibacterianos "convencionais" que aos fármacos usados para tratar outras infecções causadas por micobactérias. As espécies mais comumente associadas a doença são *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus* e *M. mucogenicum*.

As micobactérias de crescimento rápido raramente causam infecções disseminadas. Ao contrário, elas estão mais associadas a doenças que ocorrem após as bactérias serem inseridas em tecidos subcutâneos profundos por **trauma ou infecções iatrogênicas** (p.ex., infecções associadas ao uso de cateter intravenoso, curativos contaminados, dispositivos protéticos tais como válvula cardíaca, diálise peritoneal ou broncoscopia). Infelizmente, a incidência de infecções por esses micro-organismos está crescendo à medida que procedimentos mais invasivos vêm sendo realizados em pacientes hospitalizados e os cuidados médicos avançados vêm aumentando a expectativa de vida de pacientes imunocomprometidos. As infecções oportunistas em pacientes imunocompetentes têm se tornado comuns (Caso Clínico 22-3).



Caso Clínico 22-3 Infecções Micobacterianas Associadas a Salões de Beleza

Em setembro de 2000 (Winthrop KL et al: *N Engl J Med* 346:1366-1371, 2002), um clínico relatou ao California Department of Health o caso de quatro pacientes do sexo feminino que desenvolveram furunculose nas extremidades inferiores. Cada uma apresentou pequenas pápulas eritematosas que se tornaram bolhas grandes, moles, flutuantes e violáceas no decorrer de várias semanas. As culturas bacterianas das lesões foram negativas, e as pacientes não responderam à terapia antibacteriana empírica. Todas elas frequentaram o mesmo salão de beleza antes do aparecimento dos furúnculos. Como resultado da investigação no salão de beleza, foi identificado um total de 110 pacientes com furunculose. O *Mycobacterium fortuitum* foi detectado nas culturas de lesões de 32 pacientes, bem como nos banhos para os pés usados pelas pacientes antes do serviço de pedicure. A depilação das pernas foi identificada como um fator de risco para a doença. Surtos semelhantes foram relatados na literatura, o que ilustra os riscos associados à contaminação de águas com micobactérias de crescimento rápido; as dificuldades de confirmar essas infecções por culturas bacterianas de rotina, que são tipicamente incubadas somente por 1 a 2 dias; e a necessidade de terapia antibiótica eficaz.

Ao contrário das micobactérias de crescimento lento, as espécies de crescimento rápido são resistentes à maioria dos agentes antimicobacterianos comumente usados, mas são sensíveis a antibióticos como claritromicina, imipenem, amicacina, cefoxitina e sulfonamidas. A atividade específica desses agentes deve ser determinada com testes *in vitro*. Como as infecções por essas micobactérias geralmente estão confinadas à pele ou associadas a dispositivos protéticos, o debridamento cirúrgico ou a remoção da prótese também é necessária.

Nocardia

Fisiologia e Estrutura

As nocárdias são bacilos aeróbios estritos que formam filamentos ramificados em tecidos e em culturas. Esses filamentos lembram as hifas formadas pelos bolores e, por um período, pensou-se que *Nocardia* era um fungo; no entanto, esses organismos apresentam parede celular Gram-positiva e outras estruturas celulares que são características de bactérias. Muitos dos isolados são fracamente corados com coloração de Gram e parecem ser Gram-negativos, com grânulos intracelulares Gram-positivos (Fig. 22-9). A explicação para essa propriedade da coloração é que as nocárdias possuem uma estrutura da parede celular contendo ácidos graxos de cadeia ramificada (p.ex., ácido tuberculosteárico, ácido *meso*-diaminopimélico [*meso*-DAP], ácidos micólicos). O comprimento dos ácidos micólicos das nocárdias (de 50 a 62 átomos de carbono) é menor que os das micobactérias (de 70 a 90 átomos de carbono). Essa diferença pode explicar a razão pela qual, embora ambos os gêneros sejam álcool-acidorresistentes, o *Nocardia* é descrito como "fracamente álcool-acidorresistente"; ou seja, deve ser utilizada uma solução descolorizante fraca de ácido hidroclórico para demonstrar a capacidade de álcool-acidorresistência das nocárdias (Fig. 22-10). Essa álcool-acidorresistência também é uma característica útil para distinguir os organismos *Nocardia* de outros morfologicamente similares, como os *Actinomyces*.

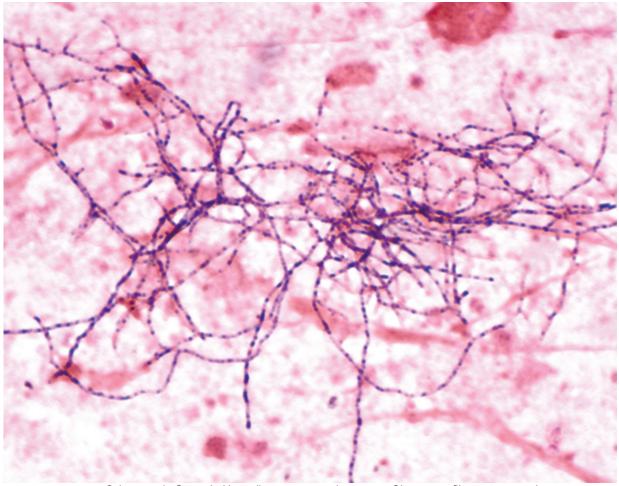


FIGURA 22-9 Coloração de Gram de *Nocardia* em amostra de escarro. Observe os filamentos granulosos delicados.

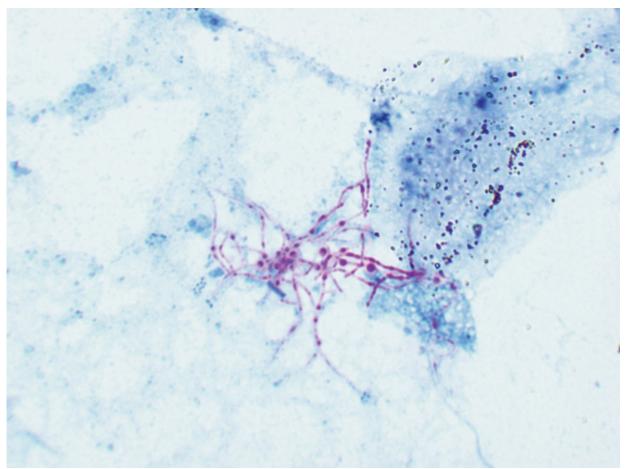


FIGURA 22-10 Coloração álcool-acidorresistente da espécie *Nocardia* em escarro expectorado. Ao contrário do que se observa em micobactérias, os membros do gênero *Nocardia* não retêm uniformemente o corante ("parcialmente acidorresistentes").

As espécies *Nocardia* são catalase-positivas, usam os carboidratos oxidativamente, e conseguem crescer na maioria dos meios laboratoriais não seletivos utilizados para o isolamento de bactérias, micobactérias e fungos. No entanto, o seu crescimento é lento, necessitando de 3 a 5 dias de incubação para que as colônias possam ser observadas nas placas de cultura; por isso, o laboratório deve ser avisado de que as culturas devem ser incubadas por mais tempo do que os habituais 1 a 2 dias. As colônias inicialmente apresentam a cor branca, mas podem ser bastante variáveis (p.ex., de seca a butirosa, de branca a laranja; Fig. 22-11). As hifas aéreas (hifas que se projetam acima da superfície da colônia) são comumente vistas quando as colônias são observadas com um microscópio de dissecção (estereoscópico) (Fig. 22-12). A combinação da **presença concomitante de hifas aéreas e de álcool-acidorresistência é exclusiva** do gênero *Nocardia* e pode ser utilizada como um teste rápido para a identificação do gênero.

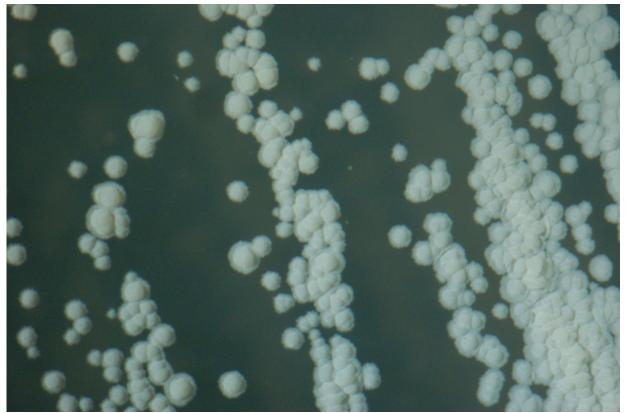


FIGURA 22-11 Colônias de Nocardia.

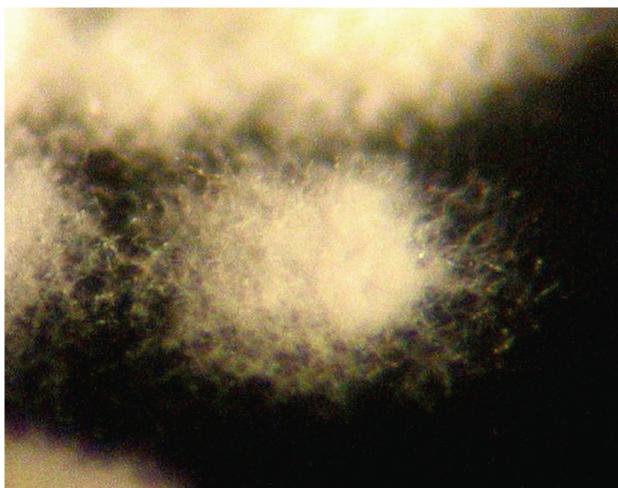


FIGURA 22-12 Hifas aéreas de Nocardia.

A classificação taxonômica desse gênero é — simplificadamente — uma confusão, sendo que a maior parte dos organismos descritos na literatura estão atualmente reconhecidos como incorretamente identificados. Historicamente, esses organismos foram classificados de acordo com a sua habilidade de utilizar carboidratos e de decompor uma variedade de

substratos, bem como segundo seus perfis de suscetibilidade a antimicrobianos. As relações taxonômicas reais entre os membros do gênero foram elucidadas apenas recentemente, por meio do uso de sequenciamento gênico. Atualmente, mais de 150 espécies foram identificadas, um número muito maior do que poderia ser alcançado por meio de testes bioquímicos. Felizmente, a maioria das infecções é causada por relativamente poucas espécies, e a identificação desse grupo de organismos ao nível de gênero, combinada com testes de suscetibilidade *in vitro*, é o suficiente para o tratamento da maioria dos pacientes (Tabela 22-5).



Tabela 22-5

Doenças de Determinados Actinomicetos Patogênicos

Micro- organismo	Doenças	Frequência
Nocardia	Doenças pulmonares (bronquite, pneumonia, abscessos pulmonares); infecções cutâneas primárias ou secundárias (p.ex., micetoma, infecções linfocutâneas, celulite, abscessos subcutâneos); infecções secundárias do sistema nervoso central (p.ex., meningite, abscessos cerebrais)	Comum
Rhodococcus	Doenças pulmonares (pneumonia, abscessos pulmonares); doenças disseminadas (p.ex., meningite, pericardite); infecções oportunistas (p.ex., infecções de feridas, peritonite, endoftalmite traumática)	Incomum
Gordonia	Infecções oportunistas	Raro
Tsukamurella	Infecções oportunistas	Raro

Patogênese e Imunidade

Embora as toxinas e as hemolisinas tenham sido descritas para nocárdias, o papel desempenhado por esses fatores na doença não está definido. Parece que o principal fator associado à virulência é a habilidade das cepas patogênicas para evitar a morte pela fagocitose. Quando os fagócitos entram em contato com os micro-organismos, ocorre uma explosão oxidativa (oxidative burst) com a liberação de metabólitos de oxigênio tóxicos (i.e., peróxido de hidrogênio, superóxido). As cepas patogênicas de nocárdia são protegidas desses metabólitos pela sua secreção de catalase e superóxido dismutase. A superóxido dismutase presente na superfície também protege as bactérias. As nocárdias também são capazes de sobreviver e se replicar em macrófagos através (1) da inibição da fusão fagossomo-lisossomo (mediada pelo fator corda), (2) da inibição da acidificação do fagossomo e (3) do escape da morte mediada pela fosfatase ácida através da metabolização da enzima como fonte de carbono.

Epidemiologia

As infecções por *Nocardia* são **exógenas** (i.e., causadas por organismos que não fazem parte da flora humana normal). A presença ubíqua do ganismo em solos ricos em matéria orgânica e o número crescente de indivíduos imunocomprometidos vivendo em comunidades levaram a um aumento dramático da doença causada por esse micro-organismo. O aumento é particularmente notável em populações de alto risco, tais como pacientes ambulatoriais infectados com HIV ou com outras deficiências nas células T, pacientes que estejam recebendo terapia imunossupressora devido a transplantes de medula óssea ou de órgãos sólidos e pacientes imunocompetentes com comprometimento da função pulmonar por bronquite, enfisema, asma, bronquiectasia e proteinose alveolar. A doença broncopulmonar se desenvolve após a colonização inicial do trato respiratório superior pela inalação, seguida da aspiração de secreções orais para as vias aéreas inferiores. As nocardioses cutâneas primárias se desenvolvem após introdução traumática de organismos nos tecidos subcutâneos, e o envolvimento cutâneo secundário normalmente é consequência da disseminação em uma localização pulmonar.

Doenças Clínicas (Quadro 22-2)

A doença broncopulmonar (Caso Clínico 22-4) causada por espécies de *Nocardia* é indistinguível de infecções causadas por outros organismos piogênicos, ainda que as infecções por *Nocardia* tenham tendência a se desenvolver mais lentamente, e que doenças pulmonares primárias causadas por *Nocardia* ocorram quase sempre em pacientes imunocomprometidos. É comum a presença de sinais como a tosse, dispneia e febre, mas eles não são diagnósticos. A cavitação e disseminação para a pleura são comuns. Ainda que não seja um quadro clínico específico de *Nocardia*, esses organismos devem ser levados em consideração quando pacientes imunocomprometidos apresentam pneumonia com cavitação, especialmente se houver evidência de disseminação para o sistema nervoso central (SNC) ou para tecidos subcutâneos. Se uma infecção pulmonar ou disseminada de *Nocardia* for diagnosticada em um indivíduo sem nenhuma doença subjacente, está indicada uma avaliação imunológica ampla do paciente.

Shin et al. (*Transplant Infect Dis* 8:222–225, 2006) descreveram o caso de um homem de 63 anos que recebeu um transplante de fígado em decorrência de cirrose hepática causada por hepatite C. O paciente foi tratado com fármacos imunossupressores, incluindo tacrolimus e prednisona durante 4 meses, depois dos quais ele retornou ao hospital com febre e dor nos membros inferiores. Ainda que a radiografia do tórax indicasse normalidade, o exame de ultrassom revelou um abscesso no músculo sóleo. Bacilos Gram-positivos fracamente corados foram encontrados na coloração de Gram do pus aspirado do abscesso, e *Nocardia* cresceu depois de 3 dias de incubação. O tratamento com imipenem foi iniciado; no entanto, 10 dias depois o paciente apresentou convulsões e paralisia parcial do lado esquerdo. Estudos de imagem do cérebro revelaram três lesões. O tratamento foi trocado para ceftriaxona e amicacina. Os abscessos subcutâneos e as lesões no cérebro melhoraram gradualmente, e ele teve alta depois de 55 dias de hospitalização. Esse paciente ilustra a propensão de *Nocardia* para infectar pacientes imunocomprometidos e disseminar para o cérebro, a baixa velocidade de crescimento do micro-organismo em cultura, bem como a necessidade de tratamento prolongado.



Quadro 22-2 Nocardioses: Resumos Clínicos

Doença broncopulmonar: doença pulmonar indolente com necrose e formação de abscessos; a disseminação para o sistema nervoso central ou para a pele é comum

Micetoma: doença crônica, progressiva e destrutiva, geralmente nas extremidades, caracterizada por granulomas supurativos, fibrose progressiva, necrose e formação de dutos de drenagem

Doenças linfocutâneas: infecção primária ou disseminação secundária para região cutânea, caracterizada por formação de granulomas crônicos e nódulos subcutâneos eritematosos, com eventual formação de úlcera

Celulite e abscessos subcutâneos: formação de úlceras granulomatosas com eritema circundante, mas pouco ou nenhum envolvimento dos linfonodos de drenagem

Abscesso cerebral: infecção crônica com febre, cefaleia e déficits focais relacionados com a localização dos abscessos de evolução lenta

As **infecções cutâneas** podem ser infecções primárias (p.ex., micetoma, infecção linfocutânea, celulites e abscessos subcutâneos), ou o resultado de uma disseminação secundária dos micro-organismos a partir de uma infecção primária no pulmão. O **micetoma** é uma infecção primária crônica e indolor dos pés, caracterizada por inchaço subcutâneo localizado com envolvimento dos tecidos subjacentes, músculos e ossos, supuração e a formação de diversos dutos de drenagem (caminhos estreitos que vão do foco da infecção até à superfície da pele). Diversos organismos podem causar micetoma, embora o *Nocardia brasiliensis* seja a causa mais comum na América do Norte, América Central e na América do Sul. As **infecções linfocutâneas** podem se manifestar como nódulos e ulcerações cutâneas, juntamente com o comprometimento dos vasos linfáticos e com envolvimento de linfonodos regionais. Essas infecções assemelham-se a infecções cutâneas causadas por algumas espécies de micobactérias e pelo fungo *Sporothrix schenckii*. As *Nocardia* também podem causar **lesões ulcerativas crônicas**, **abscessos subcutâneos** e **celulite** (Fig. 22-13).



FIGURA 22-13 Lesão cutânea causadas por *Nocardia*. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: *Infectious diseases*, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)

Por volta de um terço dos pacientes com infecções por *Nocardia* apresentam disseminação para o cérebro, mais comumente envolvendo a formação de um ou vários **abscessos cerebrais**. A doença pode se apresentar inicialmente como meningite crônica.

Diagnóstico Laboratorial

Devem ser coletadas várias amostras de escarro de pacientes com doença pulmonar. Como as nocárdias estão em geral espalhadas em todo o tecido e nos abscessos, é relativamente fácil detectá-las em microscopia e isolá-las nas culturas das amostras de pacientes com doença pulmonar, cutânea ou do SNC. As hifas delicadas de *Nocardia* nos tecidos fazem que elas se assemelhem a micro-organismos do gênero *Actinomyces*; no entanto, ao contrário do gênero *Actinomyces*, as nocárdias se caracterizam por ser fracamente álcool-acidorresistentes (Fig. 22-10).

Os micro-organismos crescem, na maioria dos meios de cultura incubados, em uma atmosfera contendo 5% a 10% de dióxido de carbono, mas a presença desses organismos de crescimento lento pode ser ocultada pelas bactérias comensais com crescimento mais rápido. Se uma amostra estiver potencialmente contaminada com outras bactérias (p.ex., bactérias orais no escarro), devem ser inoculados meios seletivos. Obteve-se sucesso com o meio utilizado para isolar espécies de *Legionella* (ágar carvão extrato de levedura tamponado [BCYE]). De fato, esse meio pode ser utilizado para isolar tanto *Nocardia* quanto *Legionella* de amostras pulmonares. As *Nocardia* ocasionalmente crescem em meios utilizados para isolar micobactérias e fungos; no entanto, esse método é menos confiável que o uso de meios especiais para cultura bacteriana. É importante notificar o laboratório de que há uma suspeita de nocardiose, para que as placas de cultura sejam mantidas por mais dias.

A identificação preliminar de *Nocardia* não é complicada. Os membros do gênero podem ser classificados inicialmente com base na presença de **bacilos filamentosos e álcool-acidorresistentes e hifas aéreas** na superfície da colônia. A identificação definitiva em termos de espécie é mais complexa, pois a maior parte das espécies não pode ser identificada com precisão através de testes bioquímicos, ainda que muitos laboratórios continuem utilizando-os. A identificação precisa de *Nocardia* requer a análise molecular dos genes dos ácidos ribonucleicos (RNA) ribossomais e de "genes *housekeeping*" (p.ex., gene de proteínas de choque térmico) ou da utilização de espectrometria de massa. Embora a espectrometria de massa tenha sido introduzida apenas recentemente nos laboratórios de diagnóstico de microbiologia, esse está rapidamente se tornando o método de escolha para a identificação de tais ganismos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os antibióticos com atividade contra *Nocardia* incluem o sulfametoxazol-trimetoprim (TMP-SMX), amicacina, imipenem e cefalosporinas de amplo espectro (p.ex., ceftriaxona, cefotaxima). Como a suscetibilidade a antibióticos pode variar em cada isolado, os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos devem ser realizados para orientar a terapia específica. O TMP-SMX pode ser utilizado como uma terapia empírica inicial em infecções cutâneas de pacientes imunocompetentes. A

antibioticoterapia para infecções severas e infecções cutâneas em pacientes imunocomprometidos deve incluir dois ou três antibióticos, tais como TMP-SMX e amicacina para infecções cutâneas ou pulmonares, e TMP-SMX e imipenem, ou uma cefalosporina, para infecções no SNC. Uma vez que o crescimento, de *Nocardia* é lento e está associado a recaídas terapêuticas, é recomendado tratamento prolongado (de até 12 meses). Enquanto a resposta clínica é favorável em pacientes com infecções localizadas, o prognóstico é mau para pacientes imunocomprometidos com doença disseminada.

As nocárdias são ubíquas, pelo que é impossível evitar exposição a elas. No entanto, a doença broncopulmonar causada por nocárdias é incomum em pessoas imunocompetentes, e as infecções cutâneas primárias podem ser evitadas com tratamento apropriado das feridas. As complicações associadas à doença disseminada podem ser minimizadas se a nocardiose for considerada no diagnóstico diferencial de pacientes imunocomprometidos com doença pulmonar cavitária e for rapidamente tratada.

Outras Bactérias Fracamente Acidorresistentes

O gênero *Rhodococcus* é composto por bactérias Gram-positivas e acidorresistentes, que inicialmente possuem formas de bacilo e depois revertem para formas cocoides (Fig. 22-14). Podem estar presentes ramificações rudimentares, mas as formas filamentosas delicadas e ramificadas comumente observadas em nocárdias não são observadas nos rodococos. Das espécies atualmente conhecidas, o *Rhodococcus equi* é o patógeno humano de maior importância. Originalmente, o *R. equi* (anteriormente chamado de *Corynebacterium equi*) era considerado um patógeno veterinário, em particular de herbívoros, que de maneira ocasional causava doenças ocupacionais em fazendeiros e veterinários. No entanto, esse microorganismo tornou-se um **patógeno de pacientes imunocomprometidos** progressivamente mais comum (p.ex., pacientes infectados com HIV, receptores de transplantes). Curiosamente, a maior parte dos pacientes infectados não apresenta histórico de contato com animais de pasto ou de exposição a solo contaminado com estrume de herbívoros. O aumento na incidência de infecções em humanos está muito provavelmente associado ao aumento no número de pacientes que apresentam doenças imunossupressivas, particularmente a AIDS, e com o aumento da consciência da existência do microorganismo. É provável que muitos isolados tenham sido ignorados anteriormente, ou então identificados erroneamente como bactérias corineformes sem importância.

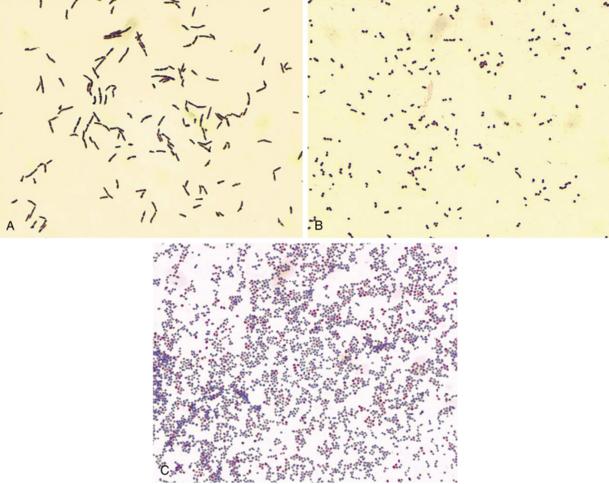


FIGURA 22-14 Rhodococcus. **A**, Coloração de Gram após crescimento em caldo nutriente por 4 horas. **B**, Coloração de Gram após crescimento em caldo nutriente por 18 horas. **C**, Coloração álcool-acidorresistente de organismos cultivados em ágar Middlebrook para micobactérias por 2 dias (observe a escassez de células vermelhas "álcool-acidorresistentes").

De maneira similar à *Nocardia*, o *R. equi* é um organismo intracelular facultativo, que sobrevive em macrófagos e causa inflamações granulomatosas que levam à **formação de abscessos**. Embora numerosos fatores de virulência putativos tenham sido identificados, a fisiopatologia precisa da infecção não é completamente compreendida. Os indivíduos com produção reduzida de IFN-γ aparentam ser incapazes de eliminar as bactérias das infecções pulmonares.

Os pacientes imunocomprometidos na maioria das vezes se apresentam com **doença pulmonar invasiva** (p.ex., nódulos pulmonares, consolidação, abscessos pulmonares), e em geral são observadas evidências de disseminação hematogênica para locais distantes (linfonodos, meninges, pericárdio e pele). Os rodococos de modo usual causam **infecções oportunistas em pacientes imunocompetentes** (p.ex., infecções cutâneas pós-traumáticas, peritonites em pacientes submetidos a diálises por um longo período, endoftalmites traumáticas).

Os rodococos crescem em meios não seletivos incubados aerobicamente, mas o pigmento rosa-salmão característico pode não ser evidente durante pelo menos 4 dias. No geral, as colônias são **mucoides**, apesar de as formas secas também poderem ser vistas. Os micro-organismos podem ser identificados inicialmente pelo seu crescimento lento, pela sua morfologia macroscópica e microscópica e pela sua capacidade de reter fracamente colorações utilizadas para organismos **álcool-acidorresistentes** (álcool-acidorresistência é observada principalmente quando os organismos crescem em meios para micobactérias). A identificação definitiva a nível da espécie é problemática; os organismos são relativamente inertes, e, portanto, os testes bioquímicos não são úteis. Assim como em *Nocardia*, a identificação precisa a nível de espécie requer ou sequenciamento gênico, ou perfilamento de proteínas por espectrometria de massa.

As infecções por *Rhodococcus* são difíceis de tratar. Embora os testes *in vitro* e os testes em modelos animais tenham identificado combinações específicas de fármacos eficazes, o sucesso no tratamento de infecções em humanos foi apenas parcial, sobretudo em pacientes imunocomprometidos com contagens baixas de células CD4 (50% de mortalidade), em comparação com pacientes imunocompetentes (20% de mortalidade). A recomendação atual para o tratamento de infecções localizadas, em pacientes imunocompetentes, é usar ou macrolídeos de largo espectro (p.ex., azitromicina, claritromicina) ou fluoroquinolonas (p.ex., levofloxacina). As infecções disseminadas e as infecções em pacientes imunocomprometidos devem ser tratadas com combinações de dois ou mais antibióticos tendo, pelo menos um deles, excelente penetração em macrófagos (p.ex., vancomicina, imipenem, aminoglicosídeos, levofloxacina, rifampina, ciprofloxacino). As penicilinas e cefalosporinas não devem ser utilizadas, já que a resistência a esses agentes é comum em rodococos, e a efetividade de qualquer antimicrobiano deve ser confirmada por testes *in vitro*.

A *Gordonia* e *Tsukamurella* foram anteriormente classificadas como *Rhodococcus*, porque são morfologicamente similares, contêm ácidos micólicos e têm **álcool-acidorresistência parcial**. Esses micro-organismos estão presentes no solo e raramente são patógenos oportunistas em humanos. A *Gordonia* foi associada a infecções cutâneas e pulmonares, bem como a infecções nosocomiais como as resultantes de infecções em cateteres intravasculares contaminados. A *Tsukamurella* foi associada a infecções em cateteres. O significado do isolamento desses micro-organismos em amostras clínicas deve ser cuidadosamente avaliado.

Referências Bibliográficas

Ambrosioni J, Lew D, Garbino J. Nocardiosis: updated clinical review and experience at a tertiary center. *Infection*. 2010;38:89–97. Appelberg R. Pathogenesis of *Mycobacterium avium* infection. *Immunol Res*. 2006;35:179–190.

Bouza E, Perez-Parra A, Rosal M, et al. *Tsukamurella*: a cause of catheter-related blood stream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28:203–210.

Conville PS, Witebsky FG. *Nocardia, Rhodococcus, Gordonia, Actinomadura, Streptomyces*, and other aerobic actinomycetes. In: MurrayPR, ed. *ASM manual of clinical microbiology*, ed 9 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2007.

De Groote M, Huitt G. Infections due to rapidly growing mycobacteria. Clin Infect Dis. 2006;42:1756–1763.

Dodiuk-Gad R, Cohen E, Ziv M, et al. Cutaneous nocardiosis: report of two cases and review of the literature. *Internatl J Derm.* 2010;49:1380–1385.

Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:367–416.

Ioerger TR, O'Malley T, Liao R, et al. Identification of new drug targets and resistance mechanisms in *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS ONE*. 2013;8:e75245.

Martinez R, Reyes S, Menendez R. Pulmonary nocardiosis: risk factors, clinical features, diagnosis and prognosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2008;14:219–227.

Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, et al. Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection—United States, 2010. *MMWR Recomm Rep.* 2010;59(RR–5):1–25.

Perez-Velez C, Marais B. Tuberculosis in children. N Engl J Med. 2012;367:348–361.

Ramanan P, Deziel P, Wengenack N. Gordonia bacteremia. J Clin Microbiol. 2013;51:3443–3447.

See I, Nguyen DB, Chatterjee S, et al. Outbreak of Tsukamurella species bloodstream infection among patients at an oncology clinic, West Virginia, 2011-2012. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2014;35:300–306.

Turenne CY, Wallace Jr R, Behr MA. Mycobacterium avium in the postgenomic era. Clin Microbiol Rev. 2007;20:205–229.

Ulrichs T, Kaufmann S. New insights into the function of granulomas in human tuberculosis. J Pathol. 2006;208:261–269.

Wells CD, Cegielski JP, Nelson LJ, et al. HIV infection and multidrug-resistant tuberculosis—the perfect storm. *J Infect Dis*. 2007;196:S86–S107.

Yew W, Leung C. Update in tuberculosis 2006. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175:541–546. Zumla A, Raviglione M, Hafner R, et al. Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2013;368:745–755.

Neisseria e Gêneros Relacionados

Uma mulher de 22 anos foi admitida no hospital com uma história de 1 dia de febre alta, calafrios e erupção maculopapular eritematosa sobre o peito, braços e pernas. Ela tinha uma contagem de leucócitos e taxa de sedimentação elevadas. As hemoculturas colhidas no momento da admissão foram positivas 10 horas mais tarde para diplococos Gram-negativos. Essa paciente provavelmente tem uma infecção por *Neisseria gonorrhoeae* ou *Neisseria meningitidis*, porque não há outras bactérias Gram-negativas com aspecto semelhante. Testes adicionais serão necessários para determinar qual é a bactéria responsável por essa infecção.

- 1. *N. gonorrhoeae e N. meningitidis* são os membros mais importantes do gênero *Neisseria*. Como esse gênero pode ser diferenciado de outras bactérias, e que propriedades de crescimento distinguem essas duas espécies de outros membros do gênero?
- 2. Quais são os principais fatores de virulência de cada micro-organismo?
- 3. Por que existe uma vacina para *N. meningiditis*, mas não para *N. gonorrhoeae*? Que sorotipo não é englobado pela vacina para *N. meningitidis* e por que isso é relevante?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Neisseria gonorrhoeae

Palavras-gatilho

Diplococos, pessoa a pessoa, gonorreia, artrite, oftalmia, resistência a medicamentos

Biologia e Virulência

- Diplococos Gram-negativos fastidiosos
- Cresce melhor a 35°–37°C em atmosfera úmida suplementada com CO₂
- Oxidase e catalase-positiva; produção de ácidos por oxidação da glicose
- Membrana externa com diversos antígenos: proteínas do pili, Por, Opa, Rmp, receptores de transferrina, lactoferrina e hemoglobina; lipo-oligossacarídeo; protease de imunoglobulina; β-lactamase
- Ver na Tabela 23-2 um resumo dos fatores de virulência

Epidemiologia

- O ser humano é o único hospedeiro natural
- Portadores podem ser assintomáticos, especialmente mulheres
- A transmissão é basicamente por contato sexual
- Quase 335.000 casos registrados nos Estados Unidos em 2012 (a verdadeira incidência deve ser no mínimo o dobro);
 cerca de 100 milhões de novos casos em todo o mundo
- A doença é mais comum em negros, pessoas com idade entre 15 e 24 anos, residentes no sudeste dos Estados Unidos, e pessoas com diversos parceiros sexuais
- Risco maior de doença disseminada em pacientes com deficiências nos componentes finais do sistema complemento

Doencas

• Ver no Quadro 23-1 um resumo das doenças clínicas

Diagnóstico

- Coloração de Gram de amostras uretrais é adequada apenas para homens sintomáticos
- A cultura é sensível e específica, mas tem sido substituída por testes de amplificação de ácidos nucleicos em muitos laboratórios

Tratamento, Prevenção e Controle

• Ceftriaxona, juntamente com azitromicina ou doxiciclina, é atualmente o tratamento de escolha, embora altos níveis de resistência às cefalosporinas têm sido observados

- Para recém-nascidos, profilaxia com nitrato de prata a 1%; oftalmia neonatal é tratada com ceftriaxona
- Prevenção consiste na educação dos pacientes, utilização de preservativos ou espermicidas com 9-nonoxinol (apenas parcialmente eficaz), e acompanhamento dos parceiros sexuais dos pacientes infectados
- Vacinas eficazes não estão disponíveis

Neisseria meningitidis

Palavras-gatilho

Diplococos, pessoa a pessoa, meningite, meningococcemia, pneumonia, vacina

Biologia e Virulência

- Diplococos Gram-negativos com requerimentos nutricionais fastidiosos
- Cresce melhor entre 35° e 37°C, em atmosfera úmida
- Oxidase e catalase-positiva; produz ácido a partir de carboidratos por via oxidativa
- Antígenos da superfície externa incluem cápsula polissacarídica, pili e lipo-oligossacarídeos
- A cápsula protege a bactéria da fagocitose mediada por anticorpos
- Receptores específicos para *pili* meningocócicos permitem a colonização e replicação na nasofaringe; modificações póstranslacionais dos *pili* melhoram a capacidade de penetração na célula hospedeira e a disseminação pessoa a pessoa
- A bactéria é capaz de sobreviver à morte intracelular na ausência de imunidade humoral
- A endotoxina medeia a maior parte das manifestações clínicas

Epidemiologia

- O ser humano é o único hospedeiro natural
- A transmissão pessoa a pessoa ocorre via aerossóis de secreções do trato respiratório
- A maior incidência da doença é em crianças com menos de 5 anos (especialmente crianças < 6 meses), pessoas que vivem em instituições e pacientes com deficiência dos componentes finais do complemento
- Doenças endêmicas e epidêmicas são causadas principalmente pelos sorogrupos A, B, C, W135, X e Y; pneumonia é mais comumente causada pelos sorogrupos Y e W135; sorogrupos A e W135 estão associados à doença em países subdesenvolvidos
- · A doença ocorre em todo o mundo, mais comumente nos meses mais frios e secos do ano

Doenças

• Veja o Quadro 23-1 para um resumo das doenças clínicas

Diagnóstico

- A coloração de Gram do líquido cefalorraquidiano é sensível e específica, mas tem valor limitado para amostras de sangue (poucos micro-organismos estão presentes, exceto em caso de sepse fulminante)
- A cultura é definitiva, mas o micro-organismo é fastidioso e morre rapidamente quando exposto a condições frias ou secas
- Testes para detectar antígenos meningocócicos são insensíveis e inespecíficos

Tratamento, Prevenção e Controle

- Crianças amamentadas no peito têm imunidade passiva (primeiros seis meses)
- O tratamento empírico de pacientes com suspeita de meningite e bacteremia deve ser iniciado com ceftriaxona; se o isolado é suscetível à penicilina, o tratamento pode ser mudado para penicilina G
- Quimioprofilaxia para contatos com pessoas infectadas com a doença deve ser feita com rifampina, ciprofloxacina e ceftriaxona
- Para a imunoprofilaxia, a vacinação é um adjuvante da quimioprofilaxia; é utilizada somente para os sorogrupos A, C,
 Y e W135; não há vacina eficaz para o sorogrupo B; vacinação para o sorogrupo A foi implementada na África

Três gêneros de importância médica pertencem à família Neisseriaceae: *Neisseria, Eikenella* e *Kingella* (Tabela 23-1). Outros gêneros da família são raramente associados a infecções em humanos e não serão discutidos neste capítulo. O gênero *Neisseria* é formado por 29 espécies, sendo duas, *Neisseria gonorrhoeae* e *Neisseria meningitidis*, estritamente patogênicas em humanos. Outras espécies são comuns na superfície de mucosas da orofaringe e nasofaringe e ocasionalmente colonizam as mucosas anogenitais. As doenças causadas por *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis* são bem conhecidas; outras espécies de *Neisseria* têm virulência limitada e geralmente causam apenas infecções oportunistas (Quadro 23-1). *Eikenella corrodens* e *Kingella kingae* colonizam a orofaringe humana e também são patógenos oportunistas.



Neisseriaceae Importantes

Micro- organismo	Origem Histórica	
Neisseria	Em homenagem ao médico alemão Albert Neisser, que foi o primeiro a descrever o micro-organismo responsável pela gonorreia	
N. gonorrhoeae	gone, semente; rhoia, fluxo (um fluxo de sementes; referência à gonorreia)	
N. meningitidis	meningis, a membrana que reveste o cérebro; itis, inflamação (inflamação das meninges, como ocorre na meningite)	
Eikenella	Em homenagem a M. Eiken, o primeiro a nomear a espécie tipo deste gênero	
E. corrodens	corrodens, roendo ou comendo (colônias desta espécie comem para dentro do ágar)	
Kingella	Em homenagem à bacteriologista americana Elizabeth King	



Quadro 23-1 Neisseriaceae: Resumos Clínicos

Neisseria gonorrhoeae

Gonorreia: caracterizada por corrimento purulento na região acometida (p.ex., uretra, cérvix, epidídimo, próstata, reto) depois do período de incubação de 2 a 5 dias

Infecções disseminadas: disseminação da infecção do trato urogenital através do sangue para a pele ou articulações; caracterizada por erupções pustulares com base eritematosa e artrite supurativa nas articulações

Oftalmia neonatal: infecção ocular purulenta adquirida pelo recém-nascido durante o nascimento

Neisseria meningitidis

Meningite: inflamação purulenta das meninges, associada a dores de cabeça, sinais meníngeos e febre; alta taxa de mortalidade, a menos que prontamente tratada com antibióticos eficazes

Meningococcemia: infecção disseminada, caracterizada por trombose de pequenos vasos sanguíneos e envolvimento de vários órgãos; petéquias cutâneas coalescem em lesões hemorrágicas maiores

Pneumonia: manifestação menos grave da doença meningocócica, caracterizada por broncopneumonia em pacientes com doença pulmonar de base

Eikenella corrodens

Feridas por mordidas humanas: infecção associada à introdução traumática (p.ex., mordida, traumas causados por brigas) de micro-organismos orais em tecidos profundos.

Endocardite subaguda: infecção do endocárdio caracterizada pelo início gradual de febre baixa, suores noturnos e calafrios

Kingella kingae

Endocardite subaguda: como para E. corrodens

Neisseria gonorrhoeae e Neisseria meningitidis

Infecções causadas por N. gonorrhoeae, em especial a doença sexualmente transmissível gonorreia, são conhecidas há séculos. Apesar da antibioticoterapia eficaz, a gonorreia é uma das doenças sexualmente transmitidas mais comuns nos Estados Unidos. A presença de N. gonorrhoeae em um material clínico sempre é considerada significativa. Por outro lado, N. meningitidis pode colonizar a nasofaringe de pessoas saudáveis sem causar doença ou pode causar meningite comunitária, com evolução rápida que pode levar à sepse fatal ou broncopneumonia. A rápida transição entre saúde e doença fatal pode causar medo e pânico em uma comunidade, diferentemente da reação a quase qualquer outro patógeno.

Fisiologia e Estrutura

As espécies de *Neisseria* são bactérias **Gram-negativas**, aeróbias, tipicamente na forma de cocos (0,6 a 1,0 µm de diâmetro) e dispostas em pares (**diplococos**), com os lados adjacentes achatados (lembrando grãos de café [Fig. 23-1]). Todas as espécies são oxidase-positivas, e a maioria produz catalase, propriedades que, combinadas com a coloração de Gram e a morfologia, permitem a rápida identificação presuntiva de um isolado clínico. Ácidos são produzidos por oxidação de carboidratos (não por fermentação), uma propriedade que tem sido historicamente utilizada para diferenciar as espécies de *Neisseria*. Métodos mais rápidos, como a espectrometria de massa, são utilizados atualmente para identificar essas bactérias.

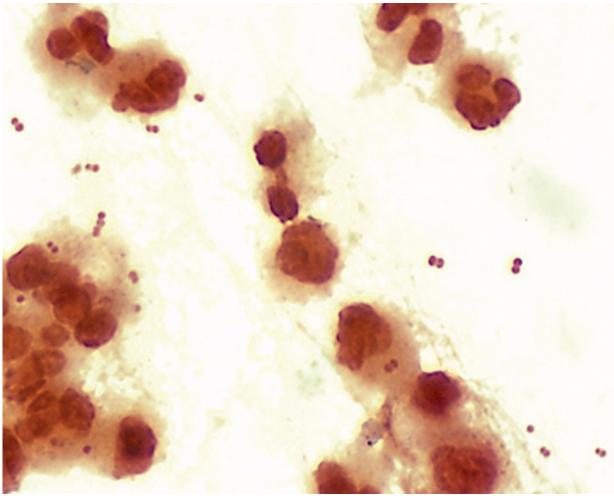


FIGURA 23-1 *Neisseria meningitidis* no líquido cefalorraquidiano. Observe o arranjo espacial dos pares de cocos com os lados adjacentes achatados, que é característico deste gênero.

Espécies patogênicas e não patogênicas de *Neisseria* também podem ser diferenciadas pelo seu crescimento em ágarsangue e ágar-nutriente. Cepas não patogênicas crescem em ambos os meios, a *N. meningitidis* cresce em ágar-sangue e tem um crescimento variável em ágar-nutriente e a *N. gonorrhoeae* não cresce em qualquer um dos meios. Todas as cepas de *N. gonorrhoeae* necessitam de cistina e uma fonte de energia (p.ex., glicose, piruvato e lactato) para o crescimento e muitas cepas necessitam da adição de suplementos como aminoácidos, purinas, pirimidinas e vitaminas. Amido solúvel é adicionado ao meio para neutralizar o efeito tóxico dos ácidos graxos. Portanto, *N. gonorrhoeae* somente cresce em **ágarchocolate** enriquecido e outros meios suplementados. A temperatura ótima de crescimento é de **35°C a 37°C**, porque o micro-organismo é sensível a temperaturas mais baixas. *N. gonorrhoeae* ainda requer uma atmosfera úmida com **5% de dióxido de carbono (CO₂)** para seu crescimento. Essas propriedades de crescimento têm importância prática: a menos que a amostra seja processada em meios enriquecidos apropriados, a *N. gonorrhoeae* não será recuperada. Apesar da natureza fastidiosa desse micro-organismo tornar difícil o seu isolamento em espécimes clínicos, a bactéria é facilmente transmitida pelo contato sexual.

A estrutura da parede celular de *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis* é típica de uma bactéria Gram-negativa, com uma fina camada de peptidoglicano localizada entre a membrana citoplasmática e a membrana externa. O principal fator de virulência de *N. meningitidis* é a cápsula polissacarídica. Embora a superfície externa de *N. gonorrhoeae* não seja coberta com uma verdadeira cápsula de carboidratos, ela apresenta carga negativa como a cápsula. Diferenças antigênicas no **polissacarídeo capsular** de *N. meningitidis* são a base para a sorogrupagem dessa bactéria *in vitro* e representam um papel importante na determinação da capacidade de uma cepa causar infecção. Atualmente são conhecidos 13 sorogrupos, com 6 sorogrupos (A, B, C, W135, X e Y) associados à doença endêmica e epidêmica.

Tanto as cepas patogênicas de *Neisseria* quanto as não patogênicas possuem *pili* que se estendem da membrana citoplasmática e atravessam a membrana externa. *Pili* possuem várias funções, incluindo aderência às células do hospedeiro, transferência de material genético e mobilidade, e sua presença parece ser importante para a patogênese de *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis*, em parte porque *pili* permitem a adesão às células epiteliais não ciliadas, conferindo resistência à morte causada pelos neutrófilos. *Pili* são compostos por subunidades proteicas repetitivas (*pilinas*) que têm uma região conservada na porção aminoterminal e uma região altamente variável na porção carboxiterminal. A ausência de imunidade para a reinfecção por *N. gonorrhoeae* resulta parcialmente da variação antigênica das pilinas e da variação de fase na expressão dessas proteínas; esses fatores dificultam as tentativas de se desenvolver vacinas eficazes para gonorreia.

Outras famílias importantes de proteínas estão presentes na membrana externa. As **porinas** são proteínas integrantes da membrana externa que formam poros ou canais para a passagem de nutrientes para dentro da célula ou para a saída de

produtos indesejáveis. *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis* têm dois genes que codificam as porinas, denominados *porA* e *porB*. As duas proteínas codificadas por esses genes, **PorA** e **PorB**, são expressas por *N. meningitidis*, mas *PorA* é um gene silencioso em *N. gonorrhoeae*. Assim, além de ser a principal proteína da membrana externa de *N. gonorrhoeae* (compõe aproximadamente 60% da membrana externa), PorB funciona ativamente para garantir a sobrevivência da bactéria. Essa poderia ser, portanto, um alvo lógico para o desenvolvimento de uma vacina; no entanto, PorB é expressa em duas classes antigenicamente distintas, PorB1A e PorB1B, cada uma com diversas variantes sorológicas. Logo, embora PorB seja expressa em todas as cepas de gonococo, o grande número de antígenos e variedades antigênicas dessa proteína faz que ela seja um alvo fraco para o desenvolvimento de vacinas.

PorB é importante para a virulência de *N. gonorrhoeae*, já que essa proteína pode interferir na desgranulação de neutrófilos (i.e., fusão do fagolisossoma que levaria à morte da bactéria intracelular) e presumivelmente protege a bactéria da resposta inflamatória do hospedeiro. Além disso, em conjunto com outras adesinas, PorB facilita a invasão de células epiteliais pela bactéria. Finalmente, a expressão de alguns antígenos PorB torna a bactéria resistente à morte mediada pelo sistema complemento.

As **proteínas Opa** (proteínas de opacidade) são uma família de proteínas de membrana que medeiam a ligação íntima ao epitélio e aos fagócitos, e são importantes para a sinalização entre as células. Diversos alelos dessas proteínas podem ser expressos por um único isolado. Cepas de *N. gonorrhoeae* que expressam essas proteínas formam colônias opacas em cultura (por isso, a origem do nome). Colônias opacas são mais comuns em amostras de pacientes com doença localizada (p.ex., endocervicite, uretrite, faringite, prostatite), enquanto colônias transparentes estão mais associadas à doença inflamatória pélvica e a infecções disseminadas.

O terceiro grupo de proteínas da membrana externa é o das **proteínas Rmp** (proteínas modificadas por redução), as quais são altamente conservadas. Essas proteínas estimulam anticorpos que interferem na atividade bactericida do soro contra *Neisserias* patogênicas.

Ferro é essencial para o crescimento e metabolismo de *N. gonorrhoeae* e *N. meningitidis*. Essas *Neisserias* patogênicas são capazes de competir pelo ferro com o hospedeiro humano, pela **ligação da transferrina da célula do hospedeiro** a receptores específicos da superfície bacteriana. Provavelmente, a especificidade dessa ligação à transferrina humana seja a razão de essa bactéria ser um patógeno estritamente humano. A presença desse receptor é completamente diferente de outras bactérias, que sintetizam sideróforos, capazes de sequestrar o ferro. O gonococo também possui vários receptores de superfície adicionais para outros complexos de ferro do hospedeiro, como lactoferrina e hemoglobina.

Outro importante antígeno da parede celular é o **lipo-oligossacarídeo (LOS)**. Esse antígeno é composto pelo lipídio A e um núcleo de oligossacarídeo, mas não expressa o antígeno polissacarídico O da molécula de lipopolissacarídeo (LPS), presente na maioria dos bacilos Gram-negativos. A molécula de lipídio A tem atividade de endotoxina. Tanto *N. gonorrhoeae* quanto *N. meningitidis* formam espontaneamente **vesículas na membrana externa (blebs)** durante o crescimento celular rápido. Essas vesículas contêm LOS e proteínas da superfície, e podem agir de duas maneiras: aumentando a toxicidade mediada pela endotoxina e protegendo a replicação bacteriana pela ligação direta da proteína aos anticorpos.

N. gonorrhoeae e N. meningitidis produzem uma **protease imunoglobulina (Ig) A1,** que cliva a molécula na região da dobradiça, criando fragmentos imunologicamente inativos Fc e Fab. Algumas cepas de N. gonorrhoeae também produzem β-lactamases que são capazes de degradar a penicilina.

Patogênese e Imunidade (Tabela 23-2)

Os gonococos aderem às mucosas celulares, penetram nas células, multiplicam-se e passam através das células para o espaço subepitelial, onde a infecção se estabelece. As proteínas da Pili, PorB e Opa medeiam a aderência e a invasão nas células do hospedeiro. O LOS de gonococo estimula a liberação da citocina pró-inflamatória denominada **fator de necrose tumoral-α** (TNF-α), que causa a maioria dos sintomas associados à doença gonocócica.



Fatores de Virulência em Neisseria gonorrhoeae

Fator de Virulência	Efeito Biológico	
Pilina	Proteína que medeia a ligação inicial a células humanas não ciliadas (p.ex., epitélio da vagina, trompas de falópio e cavidade oral); interfere na morte por neutrófilos	
Proteína Por	Proteína do tipo porina: promove sobrevivência intracelular em neutrófilos através da prevenção da função do fagolisossoma	
Proteína Opa	Proteína de opacidade: medeia a ligação firme a células eucarióticas	
Proteína Rmp	Proteína modificada por redução: protege outros antígenos de superfície (proteína Por, lipo- oligossacarídeos) de anticorpos bactericidas	
Proteínas de ligação à transferrina, lactoferrina e hemoglobina	Medeia a aquisição de ferro para o metabolismo bacteriano	
LOS	Lipo-oligossacarídeo: tem atividade endotóxica	
IgA1 protease	Destrói a imunoglobulina A1 (papel na virulência é desconhecido)	
β-Lactamase	Hidrolisa o anel β-lactâmico da penicilina	

IgG₃ é a subclasse de IgG predominante na resposta à infecção gonocócica. Embora a resposta a PorB seja mínima, anticorpos contra pilina, Opa e LOS são rapidamente detectáveis. Além disso, anticorpos anti-LOS podem ativar o sistema complemento, liberando o componente C5a, que tem função quimiotática sobre os neutrófilos. No entanto, anticorpos IgG e IgA1 secretória específicos para a proteína Rmp podem bloquear a atividade bactericida desses anticorpos.

Experimentos com cultura de tecidos da nasofaringe mostraram que o meningococo adere-se seletivamente a receptores específicos, presentes nas células colunares não ciliadas da nasofaringe. A presença da cápsula interfere com a ligação nas células epiteliais, de modo que a síntese é regulada negativamente antes de ligação. Após a adesão, os meningococos podem se multiplicar, formando grandes agregados bacterianos ancorados às células hospedeiras. Algumas horas após a adesão, os *pili* sofrem modificações pós-translacionais, levando à desestabilização dos agregados. Isso resulta no aumento da capacidade da bactéria tanto para penetrar nas células hospedeiras quanto para ser liberada pelas vias aéreas, e, assim, a transmissão pessoa a pessoa é potencialmente aumentada.

A doença meningocócica ocorre em pacientes que não possuem anticorpos específicos contra a cápsula polissacarídica e outros antígenos expressos pela bactéria. Os recém-nascidos são protegidos pela transferência passiva de anticorpos maternos. No entanto, aos 6 meses, essa imunidade protetora desaparece, fato consistente com a observação de que a maior incidência da doença ocorre em crianças menores de 2 anos. A imunidade pode ser estimulada pela colonização com *N. meningitidis* ou outra bactéria com antígenos de reatividade cruzada (p.ex., colonização com espécies de *Neisseria* não encapsuladas; exposição ao antígeno K1 de *E. coli* que apresenta reatividade cruzada com o polissacarídeo do grupo B). A atividade bactericida requer também a presença de proteínas do sistema complemento. Estima-se que pacientes com deficiências de C5, C6, C7 ou C8 do sistema complemento são cerca de 6 mil vezes mais suscetíveis à doença meningocócica. Embora a imunidade seja mediada basicamente pela resposta humoral, a resposta de linfócitos aos antígenos meningocócicos é marcadamente menor nos pacientes com doença aguda.

Semelhantemente à *N. gonorrhoeae*, os meningococos são internalizados dentro do vacúolo fagocítico e são capazes de evitar a morte intracelular, replicar-se e migrar para o espaço subepitelial. A cápsula polissacarídica protege *N. meningitidis* da fagocitose. Os danos vasculares disseminados associados às infecções meningocócicas (p.ex., danos endoteliais, inflamação das paredes dos vasos, trombose e coagulação intravascular disseminada [CID]) são largamente atribuídos à ação da **endotoxina LOS** presente na membrana externa.

Epidemiologia

A gonorreia ocorre naturalmente somente em humanos; a doença não tem outro reservatório conhecido. Atrás apenas da clamídia, *N. gonorrhoeae* é a segunda maior causa de doenças sexualmente transmitidas nos Estados Unidos. A incidência da infecção é a mesma em homens e mulheres, é desproporcionalmente maior em negros que em hispano-americanos e brancos, e é maior no sudeste dos Estados Unidos. O pico da incidência da doença ocorre na faixa etária entre 15 e 24 anos. De forma geral, a incidência diminuiu após 1978, mas a diminuição abrandou por volta de 1996, e as infecções gonocócicas têm aumentado desde 2010. Em 2012, quase 335.000 novas infecções foram relatadas nos Estados Unidos. Porém, mesmo esse alto número de novos casos ainda subestima a verdadeira incidência da doença, uma vez que o diagnóstico e a notificação dos casos são incompletos. Segundo os órgãos de saúde pública, pelo menos metade dos novos casos não é notificada. A experiência americana também empalidece em comparação com uma estimativa de mais de 100 milhões de novos casos de gonorreia em todo o mundo.

N. gonorrhoeae geralmente é transmitida por contato sexual. As mulheres têm 50% de chances de adquirir a infecção após um único contato com um homem infectado, enquanto para o homem o risco é de aproximadamente 20%. O risco de

contágio aumenta se eleva à medida que aumentam os encontros sexuais com parceiros infectados.

O principal reservatório do gonococo é a pessoa infectada e assintomática. Portadores assintomáticos são mais comuns entre mulheres que em homens. Cerca de metade das mulheres infectadas é assintomática ou apresenta infecções brandas, enquanto a maioria dos homens é sintomática no início da infecção. Em geral, os sintomas desaparecem em poucas semanas em pessoas não tratadas, e então se estabelece o estado de portador assintomático. O local da infecção também determina a ocorrência do estado de portador, sendo que infecções retais e faringianas são mais comumente associadas ao estado de portador que às infecções genitais.

A doença meningocócica endêmica ocorre em todo o mundo, e epidemias são comuns em países em desenvolvimento. A expansão epidêmica da doença resulta da introdução de uma nova cepa virulenta em uma população imunologicamente desprotegida. As doenças endêmicas e as pandêmicas têm sido pouco frequentes em países desenvolvidos desde a Segunda Guerra Mundial. Por exemplo, em 2011, foram relatados menos de 800 casos de doença meningocócica invasiva nos Estados Unidos; em contraste, quase 90.000 casos de meningite foram registrados em 14 países africanos em 2009. Dos 13 sorogrupos, quase todas as infecções são causadas pelos sorogrupos A, B, C, W135, X e Y. Na Europa e nas Américas, os sorogrupos B, C e Y predominam na meningite ou meningococcemia; o sorogrupo A é responsável por 80% a 85% da doença nos 26 países que compõem o cinturão da meningite da África subsaariana (que se estende do Senegal à Etiópia); e o W135 é responsável por um surto de meningite em curso no Chile. Os sorogrupos Y e W135 são mais comumente associados à pneumonia meningocócica.

N. meningitidis é transmitida por aerossóis respiratórios entre pessoas com contato prolongado, como membros da família que vivem na mesma casa e militares que compartilham o mesmo alojamento. Colegas de sala da escola e funcionários de hospitais não são considerados contatos próximos e não têm alto risco de adquirir a infecção, a menos que tenham contato direto com secreções respiratórias da pessoa infectada.

Os seres humanos são os únicos portadores naturais de *N. meningitidis*. Estudos da prevalência de portadores assintomáticos de *N. meningitidis* mostraram uma tremenda variação; de menos de 1% a quase 40%. A prevalência de portadores de *N. meningitidis* na via oral ou na nasofaringe é mais alta em crianças em idade escolar e em adultos jovens; é alta em populações de baixo nível socioeconômico (devido à transmissão pessoa a pessoa em aglomerações), e não varia com as estações, embora a doença seja mais comum nos períodos frios e secos do ano. O estado de portador é tipicamente transitório, terminando após o desenvolvimento de anticorpos específicos. A doença é mais comum em crianças com idade inferior a 5 anos (particularmente crianças com menos de 6 meses), em adolescentes e adultos jovens. Pessoas imunocomprometidas, idosas ou que vivem em ambientes fechados (p.ex., alojamentos militares, presídios) estão propensas à infecção durante epidemias.

Doenças Clínicas (Quadro 23-1)

Neisseria gonorrhoeae

Gonorreia

A infecção genital em homens é primariamente restrita à **uretra**. Após o período de incubação de 2 a 5 dias, ocorre um corrimento uretral purulento (Fig. 23-2) e disúria. Quase todos os homens infectados apresentam sintomas agudos. Embora as complicações sejam raras, podem ocorrer epididimite, prostatite e abscesso periuretral. O local primário de infecção em mulheres é a cérvix (colo uterino), pois a bactéria infecta as células do epitélio colunar da endocérvix. O micro-organismo não é capaz de infectar as células do epitélio escamoso da vagina de mulheres pós-puberais. Pacientes sintomáticas geralmente apresentam corrimento vaginal, disúria e dor abdominal. Infecções genitais ascendentes, incluindo salpingites, abscessos tubo-ovarianos e doença inflamatória pélvica são observadas em 10% a 20% das mulheres.



FIGURA 23-2 Corrimento uretral purulento em homem com uretrite. (De Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, et al: Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS, ed 4, London, 2010, Saunders.)

Gonococcemia (Caso Clínico 23-1)

Infecções disseminadas com **septicemia** e **infecção da pele e articulações** ocorrem em 1% a 3% das mulheres infectadas e em proporção muito menor nos homens infectados. A maior proporção de doença disseminada em mulheres é causada pelo grande número de infecções assintomáticas não tratadas nesta população. As manifestações clínicas de doenças disseminadas incluem febre, artralgia migratória, artrite supurativa nos punhos, joelhos e tornozelos e exantema pustular de base eritematosa (Fig. 23-3) sobre as extremidades, preservando a cabeça e o tronco. *N. gonorrhoeae* é a principal causa de **artrite purulenta** em adultos.



FIGURA 23-3 Lesões de pele por infecção gonocócica disseminada. Lesões características grandes com necrose central acinzentada sobre uma base eritematosa. (De Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, et al: Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS, ed 4, London, 2010, Saunders.)



Caso Clínico 23-1 Artrite Gonocócica

Artrite gonocócica é uma forma comum de infecção disseminada por *Neisseria gonorrhoeae*. Fam et al. (*Can Med Assoc J* 108:319–325, 1973) descreveram seis pacientes com essa doença, incluindo o paciente a seguir, que tem uma apresentação típica. Uma garota de 17 anos foi admitida no hospital com um histórico de 4 dias de febre, calafrios, malestar, dor de garganta, erupção cutânea (*rash*) e poliartralgia. Ela relatou ser sexualmente ativa e ter um histórico de corrimento vaginal amarelado não tratado por 5 semanas. No momento da consulta, ela apresentava lesões cutâneas maculopapulares eritematosas no antebraço, coxa e tornozelo, e as articulações metacarpofalagianas, do punho, joelho, tornozelo e articulações mediotársicas apresentavam inflamação aguda. A contagem de leucócitos e a sedimentação de eritrócitos apresentaram resultados elevados. As culturas da cérvix foram positivas para *N. gonorrhoeae*, mas as amostras de sangue, exsudatos das lesões cutâneas e o fluido sinovial estavam todos estéreis. Foi feito diagnóstico de gonorreia disseminada com poliartrite, e a paciente foi tratada com penicilina G por 2 semanas, com sucesso. Esse caso ilustra as limitações da cultura em infecções disseminadas e o valor do histórico detalhado do paciente.

Outras Síndromes Causadas por Neisseria gonorrhoeae

Outras doenças associadas à *N. gonorrhoeae* são peri-hepatite (**síndrome de Fitz-Hugh-Curtis**); conjuntivite purulenta (Fig. 23-4), particularmente em recém-nascidos infectados durante o parto vaginal (oftalmia neonatal); gonorreia anorretal em homens homossexuais; e faringite.



FIGURA 23-4 Oftalmia neonatal por gonococo. Observam-se edema da pálpebra, eritema e exsudato purulento. A coloração de Gram da secreção revelou muitos micro-organismos e células inflamatórias. (De Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, et al: Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS, ed 4, London, 2010, Saunders.)

Neisseria meningitidis

Meningite

Em geral, a doença começa abruptamente com dor de cabeça, sinais meníngeos e febre; porém, crianças menores podem apresentar apenas sintomas não específicos, como febre e vômitos. A taxa de mortalidade nos pacientes não tratados se aproxima de 100%, mas é de menos de 10% entre os pacientes cuja antibioticoterapia apropriada é prontamente instituída. A incidência de sequelas neurológicas é baixa, sendo deficiências auditivas, desordens de aprendizagem e artrites as mais comuns.

Meningococcemia (Caso Clínico 23-2)

Septicemia (meningococcemia), com ou sem meningite, é uma doença potencialmente fatal. As manifestações clínicas características são trombose de pequenos vasos sanguíneos e o comprometimento de diversos órgãos. É comum a ocorrência de petéquias no tronco e nos membros inferiores, que podem coalescer, formando lesões hemorrágicas maiores (Fig. 23-5). Pode ocorrer uma esmagadora CID com choque e destruição bilateral das glândulas suprarrenais (síndrome de Waterhouse-Friderichsen). Também pode ser observada septicemia crônica, mais branda. Bacteremia pode persistir por dias ou semanas, e os únicos sintomas da infecção são febre baixa, artrite e petéquias. Nesses pacientes, a resposta à antibioticoterapia normalmente é excelente.



FIGURA 23-5 Lesões de pele em paciente com meningococcemia. Observe que as petéquias coalesceram e formaram uma bolha hemorrágica.



Caso Clínico 23-2 Doença Meningocócica

Gardner (*N Engl J Med* 355:1466–1473, 2006) descreveu o caso de um rapaz de 18 anos, previamente sadio, que foi levado ao departamento de emergência local com febre e dor de cabeça de início agudo. Sua temperatura estava elevada (40°C), ele estava taquicárdico (pulso de 140 batimentos/min) e hipotenso (pressão arterial de 70/40 mmHg). Foram notadas petéquias no tronco. Embora não tenha sido relatado resultado de cultura do líquido cefalorraquidiano, *Neisseria meningitidis* foi isolada do sangue do paciente. Apesar da administração imediata de antibióticos e outros suportes médicos, as condições do paciente deterioraram-se rapidamente, e ele faleceu 12 horas após a entrada no hospital. Esse paciente ilustra a progressão rápida de doenças meningocócicas, mesmo em adultos saudáveis.

Outras Síndromes Causadas por Neisseria meningitidis

Outras infecções causadas por *N. meningitidis* são pneumonia, artrite e uretrite. A pneumonia meningocócica comumente é precedida por uma infecção do trato respiratório. Os sintomas incluem tosse, dor torácica, estertores, febre e calafrios. A maioria dos pacientes apresenta sintomas de faringite. O prognóstico com pneumonia meningocócica é bom.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

A coloração de Gram é muito sensível (> 90%) e específica (98%) para a detecção de infecção gonocócica em homens com uretrite purulenta (Fig. 23-1). Porém, a sensibilidade de tal método para detectar a infecção em homens assintomáticos é de 60% ou menos. Esse teste também tem sensibilidade relativamente baixa para detectar cervicite gonocócica em mulheres sintomáticas ou não. No entanto, um resultado positivo é considerado confiável quando um microscopista experiente detecta diplococos Gram-negativos no interior de leucócitos polimorfonucleares. Dessa maneira, todos os resultados negativos da coloração de Gram em mulheres e em homens assintomáticos devem ser confirmados.

A coloração de Gram também é útil para o diagnóstico precoce de artrite purulenta, mas não tem sensibilidade e especificidade para a detecção de *N. gonorrhoeae* em pacientes com lesões cutâneas, infecções anorretais ou faringite.

Espécies comensais de *Neisseria* na orofaringe e bactérias morfologicamente similares no trato gastrointestinal podem ser confundidas com *N. gonorrhoeae*.

N. meningitidis pode ser facilmente visualizada no líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com meningite (Fig. 23-1), a menos que o paciente tenha recebido terapia antimicrobiana antes da amostra clínica ser recolhida. A maioria dos pacientes com bacteremia causada por outros micro-organismos possui poucos organismos no sangue, e a coloração de Gram não tem valor diagnóstico; entretanto, pacientes com doença meningocócica grave normalmente possuem um grande número de micro-organismos no sangue, e estes podem ser visualizados quando os leucócitos de sangue periférico são corados pela coloração de Gram.

Detecção de Antígeno

Os testes para detecção de antígenos de *N. gonorrhoeae* são menos sensíveis que a cultura ou testes de amplificação de ácidos nucleicos, e não são recomendados, a menos que testes confirmatórios sejam realizados em espécimes negativos. Testes comerciais para detectar antígenos capsulares de *N. meningitidis* no LCR, sangue e urina (onde os antígenos são excretados) foram amplamente utilizados no passado, mas recentemente caíram em desuso nos Estados Unidos, pois estes testes são menos sensíveis que a coloração de Gram, e podem ocorrer reações falso-positivas, particularmente na urina.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Testes de amplificação de ácido nucleico (NAA, do inglês, *nucleic acid amplification*) específicos para *N. gonorrhoeae* têm sido desenvolvidos para a detecção direta da bactéria em espécimes clínicos. Os testes que utilizam estes ensaios são rápidos (os resultados estão disponíveis em 1 a 2 horas), sensíveis e geralmente específicos, embora os testes de confirmação sejam recomendados para resultados positivos nas amostras não genitais (p.ex., garganta, reto). Combinações desses testes para a detecção simultânea de *N. gonorrhoeae* e *Chlamydia* estão disponíveis, e na maioria dos laboratórios substituem a cultura. O problema básico dessa estratégia é que tais testes não podem ser usados para monitorar a resistência aos antibióticos dos patógenos identificados.

Cultura

N. gonorrhoeae pode ser facilmente isolada de espécimes genitais se forem tomados os cuidados adequados durante a coleta e o processamento do espécime (Fig. 23-6). Já que outros organismos comensais normalmente colonizam superfícies mucosas, todos os espécimes genitais, retais e da faringe devem ser inoculados em meios não seletivos (p.ex., ágarchocolate) e meios seletivos (p.ex., meio Thayer-Martin modificado) que inibem o crescimento de micro-organismos contaminantes. Visto que algumas cepas de gonococos são inibidas pela vancomicina presente na maioria dos meios seletivos, estes não devem ser usados. Esses micro-organismos também são inibidos por ácidos graxos e traços de metais presentes nos hidrolisados de peptona e ágar utilizados comumente (ágar-sangue, ágar-nutriente). Os gonococos morrem rapidamente se os espécimes secarem; assim, o ressecamento e as temperaturas frias devem ser evitados, e os espécimes devem ser rapidamente inoculados em meios pré-aquecidos no momento da coleta.

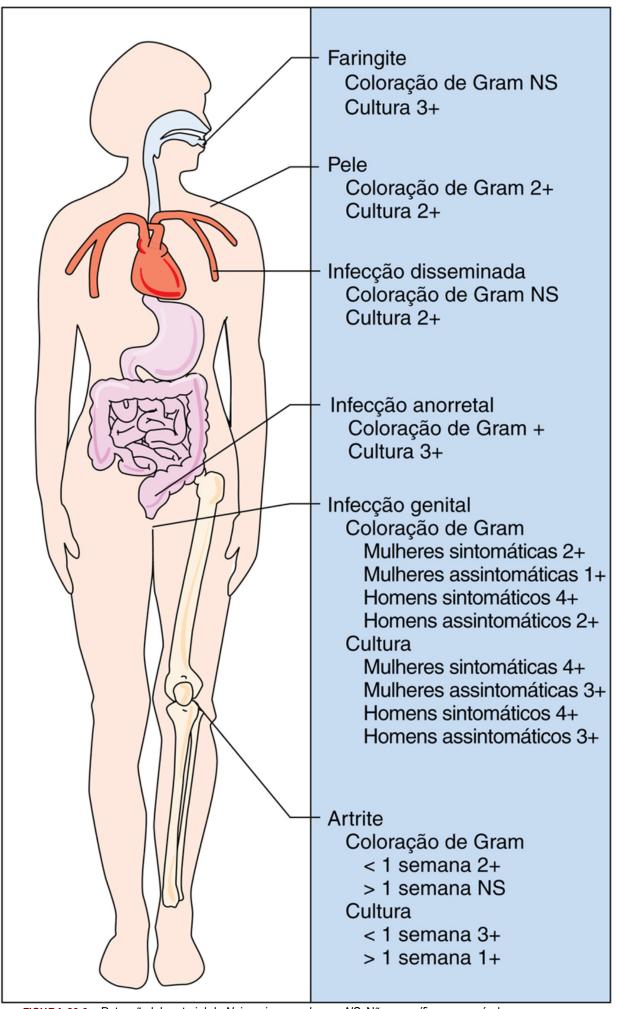


FIGURA 23-6 Detecção laboratorial de Neisseria gonorrhoeae. NS, Não específico ou sensível.

A endocérvix deve ser adequadamente exposta para garantir a coleta de uma amostra adequada. Embora as bactérias possam ser recuperadas no exsudato endocervical presente na vagina, uma amostra vaginal é inadequada em mulheres assintomáticas. Ainda que a endocérvix seja o local de infecção mais comum na mulher, o espécime retal poderá ser o único material positivo para gonococo em mulheres com infecção assintomática, bem como em homens homossexuais ou bissexuais. Geralmente, a hemocultura é positiva para gonococo apenas na primeira semana de infecção em pacientes com doença disseminada. Além disso, é necessário um manuseio cuidadoso das amostras de sangue para garantir o isolamento adequado dos gonococos, uma vez que os suplementos presentes nos meios de hemocultura podem ser tóxicos para *Neisseria*. As culturas de amostras de articulações infectadas são positivas para o micro-organismo quando coletadas por ocasião do desenvolvimento de artrite, ao passo que as culturas cutâneas são geralmente negativas.

N. meningitidis geralmente está presente em grande número no LCR, sangue e saliva. Embora a bactéria possa ser inibida por fatores tóxicos do meio e pelo anticoagulante em hemocultura, *N. meningitidis* não é tão sensível quanto *N. gonorrhoeae*. Devido à virulência das cepas bacterianas responsáveis por infecções disseminadas, elas oferecem risco à biossegurança, e os técnicos de laboratório devem ter muito cuidado ao manipular os espécimes de LCR e sangue.

Identificação

Espécies patogênicas de *Neisseria* são, preliminarmente, identificadas por serem diplococos Gram-negativos oxidase-positivos, e por crescerem em ágar-chocolate ou em meios seletivos para espécies patogênicas de *Neisseria*. A identificação definitiva é feita pelo perfil de oxidação de carboidratos ou outros exames, tais como espectrometria de massa MALDI.

Tratamento, Prevenção e Controle

Historicamente, o antibiótico de escolha para o tratamento da gonorreia é a penicilina; contudo, esta não é utilizada atualmente porque a concentração de fármaco necessária para eliminar as cepas "sensíveis" tem vindo a aumentar de modo constante, de tal maneira que a franca resistência tornou-se comum. A resistência à tetraciclina e ciprofloxacina também se tornou prevalente. Em 2010, verificou-se que 27% dos isolados nos Estados Unidos eram resistentes à penicilina, tetraciclina ou ciprofloxacina e 7% dos isolados eram resistentes a todos os três antibióticos. Atualmente, os Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recomendam a terapia dupla com **ceftriaxona** associada ou à azitromicina ou à doxiciclina. Infelizmente, não está claro por quanto tempo essa abordagem terapêutica será eficaz. Cepas de *N. gonorrhoeae* com sensibilidade diminuída às cefalosporinas têm sido relatadas com maior frequência em países da Ásia e do Pacífico, assim como na Europa, Canadá e Estados Unidos, e, recentemente, cepas com resistência de alto nível às cefalosporinas foram identificadas na Ásia, África, Europa e América do Norte.

Os principais esforços para conter uma epidemia de gonorreia incluem educação, urgência na detecção e acompanhamento dos contatos sexuais. É importante salientar que a gonorreia é uma doença significativa. A infecção crônica pode levar à esterilidade, e infecções assintomáticas perpetuam o reservatório da doença e culminam com maior incidência da doença disseminada. A quimioprofilaxia com pomadas oftálmicas contendo nitrato de prata a 1%, tetraciclina a 1% ou eritromicina a 0,5% é realizada rotineiramente na proteção de recém-nascidos contra infecções gonocócicas nos olhos (oftalmia neonatal). Entretanto, o uso profilático de antibióticos para prevenir a infecção genital é ineficaz e não recomendado. Ainda não existe uma vacina eficaz contra N. gonorrhoeae, embora haja grande interesse em seu desenvolvimento. A imunidade à infecção por N. gonorrhoeae ainda é pouco entendida. Podem-se detectar anticorpos contra antígenos do pili, proteínas Por e LOS; todavia, infecções diversas são comuns em pessoas sexualmente promíscuas. Essa falta de imunidade protetora é parcialmente explicada pela diversidade antigênica das cepas de gonococo. A região variável da porção carboxiterminal da pilina é a porção imunodominante da molécula. Anticorpos específicos para essa região protegem contra a reinfecção contra a cepa homóloga, mas a proteção é incompleta para cepas heterólogas. A diversidade antigênica também explica a ineficácia de vacinas desenvolvidas contra as proteínas da pilina.

Cefotaxima ou ceftriaxona podem ser inicialmente utilizadas para tratar infecções por *N. meningitidis*. Se for demonstrado que o organismo é sensível à penicilina, o tratamento pode ser trocado para penicilina G. Quimioprofilaxia é recomendada quando houver exposição significativa a pacientes com doenças meningocócicas (definidos como indivíduos com exposição direta a secreções respiratórias ou > 8 horas de contato próximo com o paciente). Atualmente, rifampicina, ciprofloxacina ou ceftriaxona são recomendadas para a profilaxia.

A erradicação pelo uso de antibióticos em portadores assintomáticos de *N. meningitidis* é ineficaz. Por essa razão, os esforços têm se concentrado no aumento da imunidade contra os sorogrupos mais associados à doença, por meio do uso de vacinas. Duas vacinas tetravalentes eficazes contra os sorogrupos A, C, Y e W135 foram licenciadas nos Estados Unidos — uma polissacarídica; e uma conjugada, polissacarídeo e proteína. A vacina conjugada é recomendada para todos os adolescentes com 11 ou 12 anos, com uma dose de reforço aos 16 anos. Outros adultos em risco aumentado para a doença meningocócica devem ser vacinados com qualquer vacina tetravalente. Infelizmente, o polissacarídeo do grupo B é um imunogênio fraco e está antigenicamente relacionado com um polissacarídeo nos tecidos neurológicos humanos. Esforços para desenvolver vacinas para as proteínas do grupo B estão em andamento. Em dezembro de 2010, uma nova vacina meningocócica conjugada do grupo A foi levada com sucesso à África, e uma diminuição da incidência de meningite foi observada nas regiões onde foi usada essa vacina. Prevê-se que, até 2016, todos os 26 países do cinturão da meningite africano deverão ter implementado essa vacina.

Outras espécies de Neisseria

Espécies de *Neisseria* como *Neisseria sicca* e *Neisseria mucosa* são micro-organismos comensais na orofaringe. Eles têm sido responsáveis por casos isolados de meningite, osteomielite, endocardite, infecções broncopulmonares, otite média aguda e sinusite. A incidência real de infecções do trato respiratório causadas por esses micro-organismos não é conhecida, porque a maioria dos espécimes é contaminada com secreções orais. No entanto, a observação de diplococos Gram-negativos associados a células inflamatórias em um espécime respiratório coletado cuidadosamente indica que esse micro-organismo seja o agente etiológico. A maioria dos isolados de *N. sicca* e *N. mucosa* é suscetível à penicilina, ainda que baixos níveis de resistência, causados por alterações nas proteínas de ligação da penicilina (i.e., PBP2), já tenham sido observados.

Eikenella corrodens

No início da década de 1960, alguns bacilos Gram-negativos, pequenos e fastidiosos foram classificados pelo CDC como membros do grupo HB (nome do paciente infectado com o isolado original). Os micro-organismos foram subdivididos nos subgrupos HB-1 (agora conhecido como *E. corrodens*), subgrupo HB-2 (*Aggregatibacter* [*Haemophilus*] *aphrophilus*, veja o Cap. 24) e subgrupos HB-3 e HB-4 (*Aggregatibacter* [*Actinobacillus*] *actinomycetemcomitans*, veja o Cap. 24). Além de serem morfologicamente similares, esses micro-organismos colonizam a orofaringe humana e podem causar endocardite subaguda em casos de doenças cardíacas de base.

E. corrodens é um bacilo Gram-negativo de tamanho moderado (0,2 × 2,0 μm), imóvel, não esporulado e anaeróbio facultativo. O micro-organismo foi nomeado em homenagem a Eiken, que caracterizou a bactéria e observou sua habilidade de "corroer" o ágar. *E. corrodens* é um habitante normal do trato respiratório superior humano, mas, por ser fastidioso, sua detecção é dificultada, a menos que meios seletivos específicos sejam utilizados. É um patógeno oportunista que causa infecções em pacientes imunocomprometidos ou em pacientes que tenham doenças ou traumas na cavidade oral. *E. corrodens* é mais frequentemente isolado de **feridas provocadas por mordidas humanas** ou injúrias causadas por confrontos físicos. Outras infecções são: endocardite, sinusite, meningite, abscesso cerebral, pneumonia e abscessos pulmonares. Uma vez que a maioria das infecções se origina da orofaringe, é comum a presença de bactérias aeróbias e anaeróbias na cultura.

E. corrodens é uma bactéria fastidiosa e de crescimento lento, que requer 5% a 10% de dióxido de carbono. Colônias pequenas (0,5 a 1,0 mm) são observadas após 48 horas de incubação em ágar-sangue ou ágar-chocolate, porém crescem pouco ou não crescem em meios seletivos para bacilos Gram-negativos. Fendas ou pequenos buracos no ágar são uma característica diferencial útil, mas menos da metade dos isolados possui essa habilidade. A bactéria também produz um odor característico, similar ao da água sanitária. Portanto, a identificação preliminar dessa bactéria pode ser feita ao se encontrar um bacilo Gram-negativo de crescimento lento, que forma orifícios no ágar-sangue e produz um odor de água sanitária. E. corrodens é sensível à penicilina (incomum para uma bactéria Gram-negativa), ampicilina, cefalosporina de largo espectro, tetraciclina e fluoroquinolona, mas é resistente à oxacilina, cefalosporina de primeira geração, clindamicina, eritromicina e aos aminoglicosídeos. Assim, E. corrodens é resistente a muitos dos antibióticos de escolha empírica para tratar infecções causadas por mordida.

Kingella kingae

As espécies de *Kingella* são cocobacilos Gram-negativos, pequenos, morfologicamente similares às espécies de *Neisseria* e residem na orofaringe humana. São anaeróbios facultativos, fermentam carboidratos e são fastidiosas. *K. kingae*, a espécie mais frequentemente isolada, é basicamente responsável por artrite séptica em crianças e endocardite em pacientes de todas as idades. Devido ao crescimento lento da bactéria, um período de incubação de 3 dias ou mais é necessário para a detecção do micro-organismo em espécimes clínicos. A maioria das cepas é sensível aos antibióticos β-lactâmicos, incluindo penicilina, tetraciclinas, eritromicina, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos.

Referências Bibliográficas

Cohn AC, MacNeil JR, Harrison LH, et al. Changes in Neisseria meningitidis disease epidemiology in the United States, 1998-2007: implications for prevention of meningococcal disease. *Clin Infect Dis.* 2010;50:184–191.

Gardner P. Clinical practice: prevention of meningococcal disease. N Engl J Med. 2006;355:1466–1473.

Harrison L. Epidemiological profile of meningococcal disease in the United States. Clin Infect Dis. 2010;50:S37-S44.

Kirkcaldy RD, Kidd S, Weinstock HS, et al. Trends in antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the USA: the Gonococcal Isolate Surveillance Project (GISP), January 2006–June 2012. Sex Transmit Infect. 2013;89(Suppl 4):5–10.

Milonovich L. Meningococcemia: epidemiology, pathophysiology, and management. J Pediatr Health Care. 2007;21:75-80.

Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* Initiating a future era of untreatable gonorrhea: detailed characterization of the first strain with high level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3538–3545.

Quagliarella V. Dissemination of Neisseria meningitidis. N Engl J Med. 2011;364:1573–1575.

Schielke S, Frosch M, Kurzai O. Virulence determinants involved in differential host niche adaptation of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Med Microbiol Immunol*. 2010;199:185–196.

Stephens D. Conquering the meningococcus. FEMS Microbiol Rev. 2007;31:3–14.

Tan L, Carlone G, Borrow R. Advances in the development of vaccines against Neisseria meningitidis. N Engl J Med. 2010;362:1511-1520.

Vinstead JM, McKinsey DS, Tasker S, et al. Meningococcal pneumonia: characterization and review of cases seen over the past 25 years. Clin Infect Dis. 2000;30:87–94.	

Haemophilus e Bactérias Relacionadas

Um menino de 10 anos estava apanhando e atirando uma bola de beisebol com um amigo. Quando falhou ao apanhar, correu para o quintal de um vizinho para recuperar a bola. O seu movimento surpreendeu um cão que estava dormindo, que então ladrou e mordeu o menino na perna. A mordida perfurou a pele, mas não feriu o menino de outra forma. Ele correu de volta para o seu amigo e continuou jogando a bola, não muito preocupado com a mordidela. Dois dias depois, o local da mordida tornou-se eritematoso e doloroso, e um exsudato seroso estava presente. A sua mãe levou-o a uma clínica de emergência local, onde foram realizadas culturas, e iniciaram-se os antibióticos. No dia seguinte, o laboratório informou que tinha sido isolado um bacilo Gram-negativo que foi posteriormente identificado como *Pasteurella multocida*. Este micro-organismo é um membro da família Pasteurellaceae, uma coleção heterogênea de pequenos bacilos Gram-negativos.

- 1. Quais são as infecções mais comumente associadas a *Haemophilus influenzae* tipo B, *Actinobacillus*, *Aggregatibacter* e *Pasteurella*?
- 2. Por que a doença causada por H. influenzae tipo B é incomum nos Estados Unidos?
- 3. Por que a detecção do polissacarídeo capsular (i.e., polirribitol fosfato [PRP]) em H. influenzae tem valor limitado?
- 4. Qual é o tratamento de escolha das infecções causadas por Pasteurella?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Haemophilus

Palavras-gatilho

Pequenos cocobacilos, tipo B, PRP, meningite, cancroide (cancro mole), vacina

Biologia e Virulência

- Bacilos ou cocobacilos Gram-negativos pequenos, pleomórficos
- Anaeróbios facultativos, fermentadores
- Maioria das espécies requer fator X ou V para o crescimento
- H. influenzae dividido sorologicamente em (tipos a a f) e bioquimicamente (biótipos I a VIII)
- H. influenzae tipo B é clinicamente mais virulento (com polirribitol fosfato [PRP] na cápsula)
- Haemophilus adere à célula do hospedeiro através dos pili e de estruturas não pilosas

Epidemiologia

- Espécies de *Haemophilus* comumente colonizam humanos, embora espécies encapsuladas de *Haemophilus*, particularmente *H. influenzae* tipo B, sejam incomuns na microbiota normal
- Doenças causadas por *H. influenzae* tipo B eram primariamente um problema pediátrico, eliminado em populações imunizadas
- Doenças provocadas por *H. ducreyi* são incomuns nos Estados Unidos
- Com exceção de *H. ducreyi*, que é disseminado pelo contato sexual, a maioria das infecções por *Haemophilus* é ocasionada pela microbiota da orofaringe do paciente (infecções endógenas)
- Pacientes com grande risco para doença são aqueles com níveis inadequados de anticorpos protetores, aqueles com deficiência no complemento e os esplenectomizados

Doencas

• Ver a Tabela 24-2 para resumo das doenças

Diagnóstico

- Microscopia é um teste sensível para detecção de *H. influenzae* em líquido cefalorraquidiano, líquido sinovial e material do trato respiratório inferior, mas não de outros locais
- Cultura é realizada usando-se ágar-chocolate

• Testes de antígenos são específicos para *H. influenzae* tipo B; portanto, esses testes são não reativos para infecções causadas por outros micro-organismos

Tratamento, Prevenção e Controle

- Infecções por *Haemophilus* são tratadas com cefalosporinas de amplo espectro, amoxicilina, azitromicina, doxiciclina ou fluoroquinolonas; suscetibilidade à amoxicilina deveria ser documentada
- Imunização ativa com vacina conjugada de PRP previne a maioria das infecções causadas por H. influenzae tipo B

Os quatro gêneros mais importantes na família Pasteurellaceae são *Haemophilus, Actinobacillus, Aggregatibacter* e *Pasteurella* (Tabela 24-1), e eles são responsáveis por um amplo espectro de doenças (Quadro 24-1). Os membros dessa família são pequenos (0,2 a $0,3 \times 1$ a $2 \mu m$), anaeróbios facultativos, bastonetes Gram-negativos. A maioria é fastidiosa, exigindo meios enriquecidos para isolamento. Membros do gênero *Haemophilus*, particularmente *H. influenzae*, são os patógenos mais comuns nessa família e serão o foco principal deste capítulo (Tabela 24-2).



Tabela 24-1

Pasteurellaceae Importantes

Micro-organismo Origem Histórica				
Haemophilus	haemo, sangue; philos, amor ("ama o sangue"; requer sangue para crescimento em meio de ágar)			
H. influenzae	Originalmente foi considerado a causa da influenza			
H. aegyptius	egyptius, egípcio (observado por Robert Koch, em 1883, em exsudatos de egípcios com conjuntivite)			
H. ducreyi	Nome em homenagem ao bacteriologista Ducrey, que primeiro isolou esse micro-organismo			
Actinobacillus	Actinis, raio; bacilo, pequena equipe ou haste ("Bacilo raio;" refere-se ao crescimento de formas filamentosas [raios])			
Aggregatibacter	Aggregare, a se unirem; bacter, haste bacteriana; bactéria em forma de bastonete agregado ou se agregam			
A. actinomycetemcomitans	comitans, acompanhar ("acompanha um actinomiceto"; isolados são frequentemente associados a Actinomyces)			
A. aphrophilus	aphros, espuma; philos, amoroso ("espuma amar")			
Pasteurella	Nome em homenagem a Louis Pasteur			
P. multocida	multus, muitos; cidus, matar ("mata muitos"; patogênico para muitas espécies de animais)			
P. canis	canis, cachorro (isolado da boca do cachorro)			



Quadro 24-1 Pasteurellaceae: Resumos Clínicos

Haemophilus influenzae

Meningite: doença primariamente de crianças imunocomprometidas, caracterizada por febre, dor de cabeça grave e sinais sistêmicos

Epiglotite: doença primariamente de crianças imunocomprometidas, caracterizada por faringite inicial, febre e dificuldade respiratória, progredindo para celulite e inchaço do tecido supraglótico com obstrução das vias aéreas **Pneumonia:** inflamação e consolidação dos pulmões observadas primariamente em idosos com doença pulmonar crônica; tipicamente causada por cepas não tipáveis

Haemophilus aegypticus

Conjuntivite: conjuntivite aguda e purulenta ("olho rosa")

Haemophilus ducreyi

Cancroide: doença sexualmente transmitida, caracterizada por uma pápula com base eritematosa que progride para úlcera dolorida com linfadenopatia associada

Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Endocardite: responsável pela forma subaguda de endocardite em pacientes sob risco para lesão subjacente de válvula cardíaca

Aggregatibacter aphrophilus

Endocardite: igual à do Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Pasteurella multocida

Ferida de mordida: manifestação mais comum é a ferida por mordida de cachorro ou gato infectado; particularmente comum com mordida de gato, porque as feridas são profundas e difíceis de desinfectar.



Tabela 24-2

Espécies de Haemophilus Associadas a Doenças Humanas

Espécies	Doenças Primárias	Frequência
H. influenzae	Pneumonia, sinusite, otite, meningite, epiglotite, celulites, bacteremia	Comum no mundo todo; incomum nos Estados Unidos
H. aegyptius	Conjuntivite	Incomum
H. ducreyi	Cancroide	Incomum nos Estados Unidos
H. parainfluenzae	Bacteremia, endocardite, infecções oportunistas	Raro
H. haemolyticus	Infecções oportunistas	Raro
H. parahaemolyticus	Infecções oportunistas	Raro

Haemophilus

Haemophilus são pequenos, às vezes pleomórficos, bacilos Gram-negativos presentes nas membranas mucosas dos humanos (Fig. 24-1). Haemophilus influenzae é a espécie mais comumente associada a doença, embora a introdução da vacina contra a H. influenzae tipo B tenha reduzido drasticamente a incidência de doença, em particular na população pediátrica. Haemophilus aegyptius é uma causa aguda importante de conjuntivite purulenta. Haemophilus ducreyi é bem reconhecido como o agente etiológico da doença sexualmente transmissível cancro mole ou cancroide. Os outros membros do gênero são geralmente isolados em amostras clínicas (p.ex., Haemophilus parainfluenzae é a espécie mais comum na boca), mas raras vezes são patogênicos, sendo responsáveis sobretudo por infecções oportunistas.

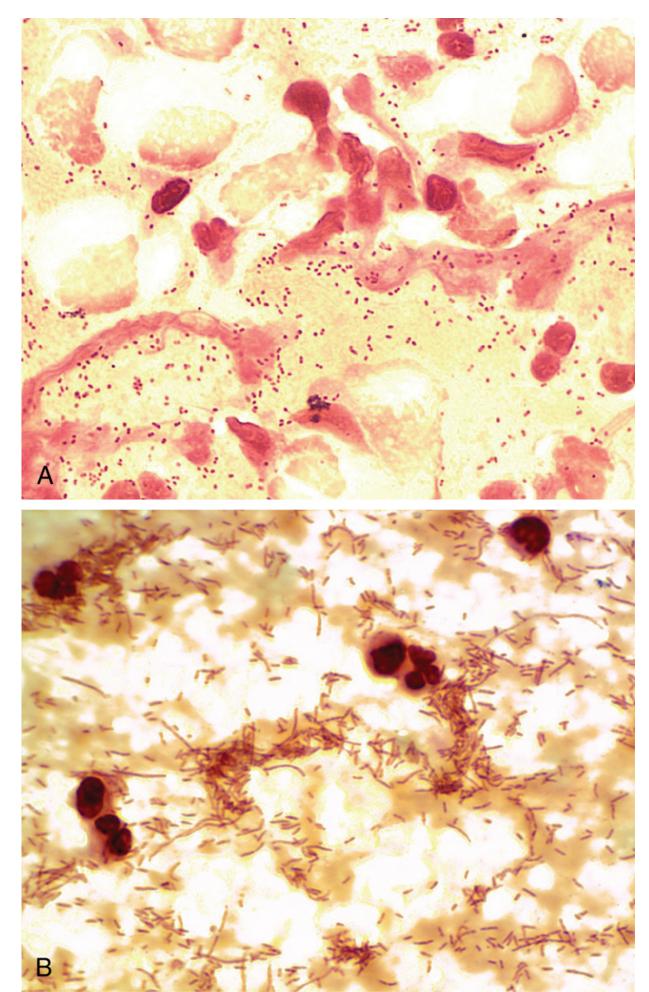


FIGURA 24-1 Coloração de Gram de *Haemophilus influenzae*. **A**, Forma de cocobacilos pequenos observados no escarro de um paciente com pneumonia. **B**, Forma pleomórfica fina observada em uma criança de 1 ano não vacinada, na África, com meningite fulminante.

Fisiologia e Estrutura

O crescimento da maioria das espécies de *Haemophilus* requer suplementação de nutrientes com um ou ambos dos seguintes fatores estimulantes do crescimento: (1) hemina (também chamado **fator X** para "fator desconhecido") e (2) nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD, também chamado **fator V** para "vitamina"). Apesar de ambos os fatores estarem presentes em meios enriquecidos com sangue, ágar-sangue de carneiro deve ser levemente aquecido para destruir os inibidores do factor V. Por essa razão, ágar-sangue aquecido ("chocolate") é utilizado para o isolamento de *Haemophilus* em cultura.

A estrutura da parede celular de *Haemophilus* é típica de outros bacilos Gram-negativos. Lipopolissacarídeo com atividade de endotoxina está presente na parede da célula, e proteínas cepas-específicas e espécies-específicas são encontradas na membrana externa. A análise dessas proteínas de cepas específicas é valiosa em investigações epidemiológicas. A superfície de muitas, mas não todas, as cepas de *H. influenzae* é coberta com uma **cápsula de polissacarídeo** e seis sorótipos antigênicos (**a** a **f**) foram identificados. Antes da introdução da vacina para *H. influenzae* tipo B, esse sorótipo foi responsável por mais de 95% de todas as infecções invasivas causadas por *Haemophilus*. Após a introdução da vacina, a maioria das doenças causadas por esse sorótipo desapareceu nas populações vacinadas, e mais da metade de toda a doença invasiva é agora causada por cepas não encapsuladas (não tipáveis). Um estudo de 2014 relatou que o sorogrupo A foi responsável por um aumento da doença invasiva de *H. influenzae*, de modo que a reemergência deste agente patogênico poderá ser observada no futuro.

Além disso, com a diferenciação sorológica de *H. influenzae*, a espécie foi subdividida em oito **biótipos** (I a VIII), conforme determinado por três reações bioquímicas: a produção de indol, a atividade da urease e a atividade da ornitina descarboxilase. A separação desses biótipos é útil para fins epidemiológicos.

Patogênese e Imunidade

Espécies de *Haemophilus*, em particular as *H. parainfluenzae* e *H. influenzae* não encapsuladas, colonizam o trato respiratório superior de praticamente todas as pessoas dentro dos primeiros meses de vida. Esses micro-organismos podem se espalhar localmente e causar doenças nos ouvidos (otite média), seios da face (sinusite) e no trato respiratório inferior (bronquite, pneumonia). Doença disseminada, no entanto, é relativamente incomum. Em contraste, *H. influenzae* encapsulado (em especial, sorotipo B [biótipo I]) é incomum no trato respiratório superior ou está presente apenas em pequenas quantidades, mas é uma causa comum de **doença em crianças não vacinadas** (i.e., meningite, epiglotite [laringite obstrutiva], celulite). *Pili* e adesinas não relacionadas com os *pili* medeiam a colonização da orofaringe por *H. influenzae*. Os componentes da parede celular das bactérias (p.ex., lipopolissacarídeo e um glicopeptídeo de baixo peso molecular) comprometem a função ciliar, conduzindo a danos do epitélio das vias respiratórias. A bactéria pode, então, ser translocada através das células epiteliais e endoteliais e pode entrar no sangue. Na ausência de anticorpos opsônicos especificamente dirigidos contra a cápsula do polissacarídeo, bacteremia de elevado grau pode se desenvolver, com a disseminação para as meninges ou outros focos distais.

O principal fator de virulência de *H. influenzae* tipo B é a cápsula polissacarídica antifagocítica, que contém ribose, ribitol e fosfato (comumente designado como **polirribitol fosfato [PRP]**). Anticorpos dirigidos contra a cápsula estimulam muito a fagocitose bacteriana mediada pela atividade bactericida do complemento. Esses anticorpos se desenvolvem em decorrência de infecção natural, vacinação com PRP purificado ou transferência passiva de anticorpos maternos. A gravidade da doença sistêmica é inversamente relacionada com a velocidade de eliminação das bactérias a partir do sangue. O risco de meningite e epiglotite é significativamente maior em pacientes com ausência de anticorpos anti-PRP, naqueles com depleção do complemento e naqueles que sofreram esplenectomia. O componente do lipopolissacarídeo **lipídio A** induz inflamação meníngea em modelo animal e pode ser responsável por iniciar essa resposta nos seres humanos. **Proteases** para a **imunoglobulina IgA1** são produzidas por *H. influenzae* (cepas encapsuladas e não encapsuladas) e podem facilitar a colonização dos micro-organismos nas superfícies das mucosas, interferindo na imunidade humoral.

Epidemiologia

Espécies de *Haemophilus* estão presentes em quase todos os indivíduos, colonizando principalmente as membranas mucosas do trato respiratório. *H. parainfluenzae* é a espécie predominante de *Haemophilus* na boca. Cepas não encapsuladas de *H. influenzae* também são comumente encontradas no trato respiratório superior; cepas encapsuladas, no entanto, são detectáveis apenas em pequenas quantidades e só quando são utilizados métodos de cultura altamente seletivos. Antes da introdução da vacina contra *H. influenzae*, embora *H. influenzae* tipo B tenha sido o sorótipo mais comum associado a doença sistêmica, ele raramente foi isolado em crianças saudáveis (um fato que realça a virulência da bactéria).

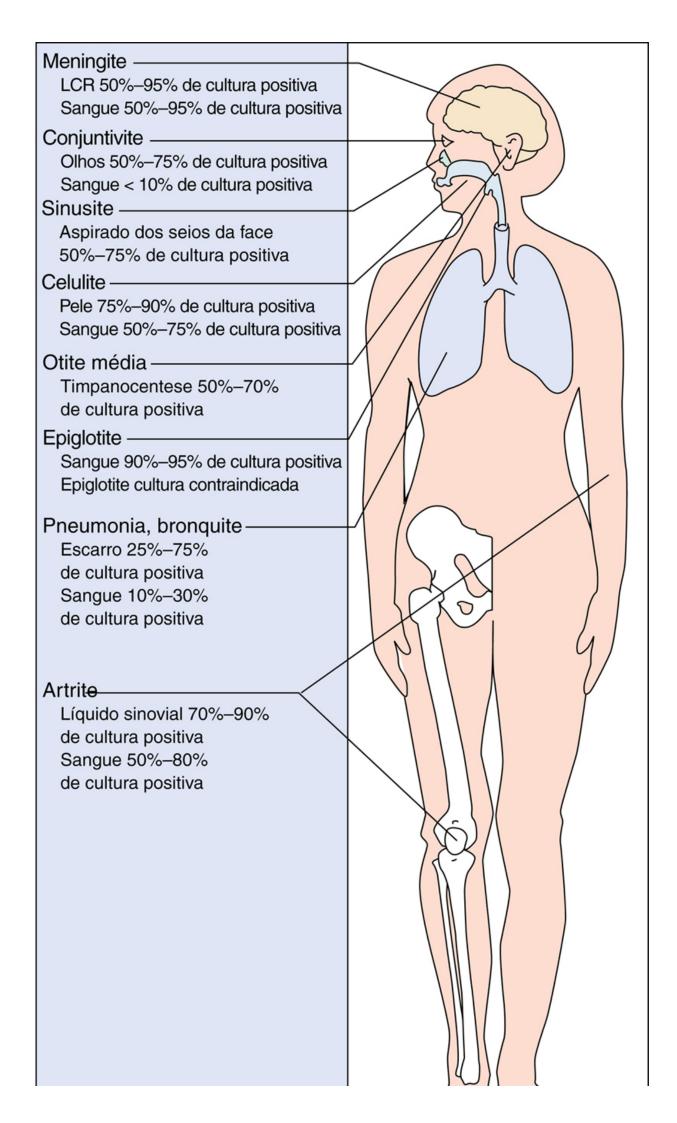
A epidemiologia da doença causada por *Haemophilus* mudou dramaticamente. Antes da introdução da **vacina conjugada** *H. influenzae* **tipo B**, um número estimado de 20.000 casos de doença invasiva causada por *H. influenzae* ocorria anualmente em crianças menores de 5 anos nos Estados Unidos. As primeiras vacinas polissacarídicas para *H. Influenzae* tipo B não eram protetoras para as crianças menores de 18 meses (a população de maior risco para a doença), porque existe um atraso natural na maturação da resposta imunitária aos antígenos de polissacarídeos. Quando as vacinas contendo antígeno PRP purificado conjugado com transportadores de proteína (i.e., toxoide diftérico, toxoide tetânico, proteína da membrana externa meningocócica) foram introduzidas em dezembro de 1987, uma resposta de anticorpos em lactentes de 2 meses e mais velhos foi produzida, e a doença sistêmica em crianças menores de 5 anos foi praticamente eliminada nos Estados Unidos, com apenas 14 casos relatados em 2011. A maior parte das infecções por *H. influenzae* tipo B

ocorre agora em crianças que não são imunes (em consequência de vacinação incompleta ou má resposta à vacina) e em adultos idosos com imunidade reduzida. Além disso, doença invasiva causada por *H. Influenzae* de outros sorótipos de cepas encapsuladas e não encapsuladas tornou-se proporcionalmente mais comum que a resultante do sorotipo B. Deve ser notado que a eliminação bem-sucedida da doença ocasionada por *H. influenzae* tipo B nos Estados Unidos não tem sido vista em muitos países em desenvolvimento, nos quais os programas de vacinação têm sido difíceis de implementar. Assim, *H. influenzae* tipo B continua a ser o patógeno pediátrico mais significativo em muitos países do mundo. Estima-se que três milhões de casos de doenças graves e até 700 mil mortes ocorram em crianças a cada ano em todo o mundo, uma tragédia, considerando-se que a vacinação pode eliminar virtualmente todos os casos de doença. A epidemiologia da doença causada por cepas não encapsuladas de *H. influenzae* e outras espécies de *Haemophilus* é distinta. Infecções de ouvido e sinusite, causadas por esses micro-organismos, são principalmente doenças pediátricas, mas podem ocorrer em adultos. Doença pulmonar afeta mais comumente idosos, em especial aqueles com histórico de doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) subjacente ou condições predisponentes para aspiração (p.ex., alcoolismo, estado mental alterado).

H. ducreyi é uma causa importante de úlceras genitais (cancro mole) na África e na Ásia, mas é menos comum na Europa e na América do Norte. A incidência da doença nos Estados Unidos é cíclica. Um pico de incidência de mais de 5.000 casos foi relatado em 1988, o qual diminuiu para 8 casos em 2011. Apesar dessa tendência favorável, o Centers for Disease Control and Prevention (CDC) têm documentado que a doença é significativamente não reconhecida e subnotificada, fazendo que a verdadeira incidência seja desconhecida.

Doenças Clínicas (Tabela 24-2)

As síndromes clínicas observadas em pacientes com infecção por *H. influenzae* são representadas na Figura 24-2. As doenças causadas por todas as espécies de *Haemophilus* são descritas nas seções seguintes.



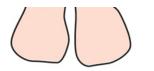


FIGURA 24-2 Infecções causadas por *Haemophilus influenzae*. Com o advento da vacina conjugada, muitas infecções em adultos envolvem áreas contíguas da orofaringe (i.e., trato respiratório inferior, seios da face e ouvidos). Infecções sistêmicas graves (p.ex., meningites, epiglotites) podem ocorrer em pacientes não imunes. *LCR*, Líquido cefalorraquidiano.

Meningite

H. influenzae tipo B foi a causa mais comum de meningite pediátrica, mas essa situação mudou rapidamente quando a vacina conjugada tornou-se amplamente utilizada. Doença em pacientes não imunes resulta da disseminação bacterêmica de micro-organismos da nasofaringe e não pode ser diferenciada clinicamente de outras causas de meningite bacteriana. A apresentação inicial é de 1 a 3 dias de história de doença respiratória superior suave, depois da qual os sinais e sintomas característicos de meningite aparecem. A mortalidade é inferior a 10% em pacientes que recebem terapia rápida, e estudos cuidadosamente desenvolvidos têm documentado uma baixa incidência de sequelas neurológicas graves (em contraste com a incidência de 50% de dano residual grave relatado em crianças não imunes, observado em estudos anteriores). Disseminação pessoa a pessoa em população não imune é bem documentada, assim precauções epidemiológicas apropriadas devem ser adotadas.

Epiglotite

Epiglotite, caracterizada pela celulite e o inchaço dos tecidos supraglóticos, representa emergência com risco de morte. Embora epiglotite seja uma doença pediátrica, o pico da incidência da doença durante a era pré-vacina ocorreu em crianças de 2 a 4 anos; em contraste, o pico de incidência de meningite foi visto em crianças de 3 a 18 meses. As crianças com epiglotite têm faringite, febre e dificuldade de respiração, o que pode progredir rapidamente para a obstrução das vias aéreas e morte. Desde a introdução da vacina, a incidência dessa doença também diminuiu dramaticamente em crianças e continua a ser relativamente rara em adultos.

Celulite

Como a meningite e a epiglotite, a celulite é uma doença pediátrica causada por *H. influenzae*, que foi largamente eliminada por vacinação. Quando observada, os pacientes têm febre e celulite caracterizada pelo desenvolvimento de manchas azulavermelhadas nas bochechas ou áreas periorbitais. O diagnóstico é fortemente sugerido pela apresentação clínica típica, celulite proximal à mucosa oral e falta documentada de vacinação na criança.

Artrite

Antes do advento da vacina conjugada, a forma mais comum de artrite em crianças menores de 2 anos era infecção de uma única e grande articulação, secundária à disseminação bacterêmica por *H. influenzae* tipo B. A doença ocorre em crianças mais velhas e adultos, mas é muito incomum e, em geral, afeta pacientes imunocomprometidos com articulações previamente danificadas.

Otite, Sinusite e Doenças do Trato Respiratório Inferior (Caso Clínico 24-1)

Cepas não encapsuladas de *H. influenzae* são agentes patogênicos oportunistas que causam infecções das vias aéreas superiores e inferiores. A maioria dos estudos tem mostrado que *H. influenzae* e *Streptococcus pneumoniae* são as duas causas mais comuns de otites e sinusites agudas e crônicas. Pneumonia primária é incomum em crianças e adultos que têm a função pulmonar normal. Esses micro-organismos em geral colonizam os pacientes que têm doença pulmonar crônica (incluindo fibrose cística) e, com frequência, estão associados a exacerbação de bronquite e franca pneumonia.



Caso Clínico 24-1 Pneumonia Causada por Haemophilus influenzae

Holmes e Kozinn (*J Clin Microbiol* 18:730–732, 1983) relataram o caso de uma mulher de 61 anos com pneumonia causada por *Haemophilus influenzae* sorótipo D. A paciente tinha uma longa história de tabagismo, doença pulmonar obstrutiva crônica, diabetes melito e insuficiência cardíaca congestiva. Ela apresentou pneumonia no lobo superior esquerdo do pulmão produzindo escarro purulento com muitos cocobacilos Gram-negativos. Ambos, cultura de escarro e de sangue, foram positivos para *H. influenzae* sorótipo D. O micro-organismo foi sensível à penicilina, à qual a paciente respondeu. Este caso ilustra a suscetibilidade de pacientes com doença pulmonar crônica de base a infecções causadas por cepas de *H. influenzae* sorótipo não B.

Conjuntivite

H. aegyptius, também chamado de **bacilo de Koch-Weeks**, ocasiona conjuntivite purulenta aguda. Esse micro-organismo contagioso está associado a epidemias, em particular durante os meses mais quentes do ano.

Cancroide

O cancro mole é uma doença sexualmente transmissível cuja diagnosticação é mais comum em homens, presumivelmente porque as mulheres podem ter a doença assintomática ou inaparente. Cerca de 5 a 7 dias após a exposição, uma pápula delicada com base eritematosa desenvolve-se na genitália ou na região perianal. Dentro de 2 dias, a lesão ulcera e torna-se dolorosa, e linfadenopatia inguinal está comumente presente. Outras causas de úlceras genitais, tais como a sífilis e o herpes simples, devem ser excluídas para confirmar o diagnóstico cancroide.

Outras Infecções

Outras espécies de *Haemophilus* podem causar infecções oportunistas, tais como otite média, conjuntivite, sinusite, endocardite, meningite e abscessos dentários.

Diagnóstico Laboratorial

Coleta e Transporte da Amostra

Já que a maioria das infecções causadas por *Haemophilus* em indivíduos vacinados se origina da orofaringe e é restrita aos tratos respiratórios superior e inferior, a contaminação da amostra com secreções orais deve ser evitada. Aspiração direta com agulha deve ser utilizada para o diagnóstico microbiológico de sinusite ou otite e escarro produzido nas vias aéreas inferiores é utilizado para o diagnóstico de pneumonia. Cultura de sangue de pacientes com pneumonia pode ser útil, mas seria previsivelmente negativa em pacientes com infecções das vias respiratórias superiores. Tanto sangue quanto líquido cefalorraquidiano (LCR) devem ser recolhidos de pacientes com o diagnóstico de meningite. Como existem por volta de 10⁷ bactérias por mL de LCR em pacientes com meningite não tratada, 1 a 2 mL de material são em geral adequados para microscopia, cultura e testes de detecção de antígeno. Microscopia e cultura são menos sensíveis, se o paciente foi exposto aos antibióticos antes de o LCR ser coletado. Hemoculturas também devem ser coletadas para o diagnóstico de epiglotite, celulite e artrite. Os materiais não devem ser coletados a partir da faringe posterior em pacientes com suspeita de epiglotite, porque o procedimento pode estimular a tosse e obstruir as vias aéreas. As amostras para a detecção de *H. ducreyi* devem ser coletadas com um cotonete umedecido, da base ou margem da úlcera. Cultura da secreção obtida por aspiração de um gânglio linfático aumentado pode ser realizada, mas é geralmente menos sensível que a cultura da úlcera. O laboratório deve ser notificado da suspeita de *H. ducreyi*, pois técnicas especiais de cultura devem ser utilizadas para recuperação do micro-organismo.

Microscopia

Se a microscopia for realizada cuidadosamente, a detecção de espécies de *Haemophilus* em amostras clínicas é tanto sensível quanto específica. Bacilos Gram-negativos, variando em forma de cocobacilos a alongados filamentos pleomórficos, podem ser detectados em mais de 80% das amostras de LCR em pacientes com meningite por *Haemophilus* não tratada (Fig. 24-1). O exame microscópico do material corado pelo Gram também é útil para o diagnóstico rápido do micro-organismo em artrites e doenças do trato respiratório inferior.

Detecção de Antígeno

A detecção imunológica do antígeno *H. influenzae*, especificamente o antígeno capsular PRP, é uma maneira rápida e sensível de diagnosticar doença causada por *H. influenzae* tipo B. PRP pode se revelar com o teste de aglutinação de partículas, o qual pode detectar menos de 1 ng/mL de PRP na amostra clínica. Nesse teste, as partículas de látex revestidas com anticorpo são misturadas com a amostra clínica; aglutinação ocorre se o PRP está presente. Antígeno pode ser detectado em LCR e urina (em que o antígeno é eliminado intacto). Entretanto, esse teste tem utilização limitada, pois pode detectar apenas *H. influenzae* tipo B, que é agora incomum nos Estados Unidos e em outros países com programa de vacinação estabelecido. Outros sorótipos capsulares e cepas não encapsuladas não apresentam reação positiva.

Cultura

É relativamente fácil de isolar *H. influenzae* a partir de amostras clínicas inoculadas em meios suplementados com os fatores de crescimento apropriados. Ágar-chocolate é utilizado na maioria dos laboratórios. Contudo, se o ágar-chocolate for superaquecido durante a preparação, o fator V é destruído, e as espécies de *Haemophilus* que exigem esse fator de crescimento (p.ex., *H. influenzae*, *H. aegyptius*, *H. parainfluenzae*) não vão crescer. A bactéria aparece como uma colônia lisa, opaca, de 1 a 2 mm após 24 horas de incubação. Elas também podem ser detectadas crescendo em torno de colônias de *Staphylococcus aureus* em ágar-sangue sem aquecimento (pelo **fenômeno de satelitismo** [Fig. 24-3]). Os estafilococos fornecem os fatores de crescimento necessários por meio de lise dos eritrócitos no meio intracelular e da liberação de heme (fator X) e excretando NAD (fator V). As colônias de *H. influenzae* nessas culturas são muito menores do que o são em ágar-chocolate, porque os inibidores do fator V presentes no sangue não são inativados.



FIGURA 24-3 Fenômeno do satelitismo. Staphylococcus aureus excreta nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD ou fator V) no meio de cultura, fornecendo o fator requerido para o crescimento de Haemophilus influenzae (colônias pequenas ao redor das colônias de S. aureus [seta]).

O crescimento de *Haemophilus* em culturas de sangue é quase sempre tardio, pois a maioria dos meios com sangue preparados comercialmente não é suplementada com concentrações ideais dos fatores X e V. Além disso, os fatores de crescimento são liberados apenas quando as células do sangue são lisadas. Isolados de *H. influenzae* em geral crescem melhor em hemoculturas incubadas anaerobicamente, porque, sob essas condições, os micro-organismos não requerem fator X para o crescimento.

H. aegyptius e *H. ducreyi* são fastidiosos e requerem condições de crescimento especiais. *H. aegyptius* cresce melhor em ágar-chocolate suplementado com 1% de IsoVitaleX (mistura de suplementos quimicamente definidos), com crescimento detectado após incubação em ambiente com dióxido de carbono durante 2 a 4 dias. Cultura para *H. ducreyi* é relativamente insensível (< 85% das culturas demonstram crescimento de micro-organismos sob condições ideais), mas supostamente é melhor no ágar gonocócico (GC) suplementado com 1% a 2% de hemoglobina, 5% de soro fetal bovino, enriquecido com IsoVitaleX, e vancomicina (3 μg/mL). As culturas deverão ser incubadas a 33°C em 5% a 10% de dióxido de carbono por 7 ou mais dias. Como os meios de cultivo e as condições de incubação não são utilizados para outras culturas bacterianas, o sucesso na recuperação de *H. ducreyi* exige que o microbiologista atente especificamente para esse micro-organismo.

Identificação

A identificação presuntiva de *H. influenzae* pode ser feita pela morfologia na coloração de Gram e demonstração de necessidade para ambos os fatores, V e X. Além disso, a identificação do subgrupo de *H. influenzae* pode ser feita com biotipagem, caracterização eletroforética dos antígenos proteicos da membrana e análise de sequências de ácido nucleicos cepa-específicas. Testes bioquímicos, análise de ácidos nucleicos ou espectrometria de massa são utilizados para identificar outras espécies desse gênero.

Tratamento, Prevenção e Controle

Pacientes com infecções sistêmicas provocadas por *H. influenzae* requerem terapia antimicrobiana rápida, porque a taxa de mortalidade, em pacientes com meningite não tratada ou epiglotite, se aproxima de 100%. As infecções graves são tratadas com **cefalosporinas de amplo espectro**. Infecções menos graves, tais como sinusites e otites, podem ser tratadas com amoxicilina (se suscetíveis, pois cerca de 30% das cepas são resistentes), uma cefalosporina ativa, azitromicina, doxiciclina ou fluoroquinolona. A maioria dos isolados de *H. ducreyi* é sensível à **eritromicina**, o fármaco recomendado para o tratamento.

A abordagem primária para prevenir doença por *H. influenzae* tipo B é por meio da imunização ativa com PRP capsular purificado. Como discutido anteriormente, a utilização de vacinas conjugadas tem sido extraordinariamente bem-sucedida em reduzir a incidência da doença e colonização por *H. influenzae* tipo B. Atualmente, recomenda-se que as crianças recebam duas ou três doses da vacina contra o *H. influenzae* tipo B antes de 6 meses de idade, seguidas de uma dose de reforço dos 12 aos 15 meses.

Quimioprofilaxia antibiótica é utilizada para eliminar a transmissão de *H. influenzae* tipo B em crianças com alto risco para a doença (p.ex., crianças < 2 anos em uma família ou creche onde a doença sistêmica foi documentada). Profilaxia com rifampicina tem sido usada nessas situações.

Actinobacillus

Espécies de *Actinobacillus* são bacilos Gram-negativos pequenos, anaeróbios facultativos, que crescem lentamente (em geral, requerendo 2 a 3 dias de incubação). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* foi o agente patogênico humano mais importante desse gênero; no entanto, em 2006, essa espécie e *Haemophilus aphrophilus* foram transferidos para um novo gênero, *Aggregatibacter*. Os outros membros do gênero *Actinobacillus* colonizam a orofaringe de seres humanos e animais e são causas de periodontite e, raramente, de endocardite, infecções de feridas de mordidas e infecções oportunistas (Tabela 24-3).



Tabela 24-3

Espécies de Actinobacillus Associadas a Doenças Humanas

Espécies Doenças Primárias		Frequência
A. equuli	Infecção de ferida de mordida	Raro
A. hominis	Infecções oportunistas (bacteremia, pneumonia)	Raro
A. lignieresii	Infecção de ferida de picada	Raro
A. ureae	Infecções oportunistas (bacteremia, meningite, pneumonia)	Raro

Aggregatibacter (Caso Clínico 24-2)

Dois membros deste gênero são importantes patógenos humanos: *A. actinomycetemcomitans e A. aphrophilus* (Tabela 24-4). Ambas as espécies colonizam a boca humana e podem se espalhar a partir da boca para o sangue e, em seguida, se manter em uma válvula cardíaca previamente danificada ou artificial, acarretando desenvolvimento de endocardite. Esta é particularmente difícil de diagnosticar, porque os sinais e sintomas clínicos se desenvolvem lentamente (**endocardite subaguda**), e as bactérias crescem lentamente em culturas de sangue. Ambas as espécies formam colônias aderentes que podem ser observadas na superfície do vidro dos frascos de hemocultura e em placas de ágar. O tratamento de escolha para a endocardite causada por esses micro-organismos é uma cefalosporina tal como a ceftriaxona.



Tabela 24-4

Espécies de Aggregatibacter Associadas a Doenças Humanas

Espécies	Doenças Primárias	Frequência
A. actinomycetemcomitans	Periodontite, endocardite, infecção de ferida de mordida	Comum
A. aphrophilus	Endocardite, infecções oportunistas	Incomum



Caso Clínico 24-2 Endocardite Causada por Aggregatibacter

actinomycetemcomitans

Steitz et al. (*Clin Infect Dis* 27:224–225, 1998) descreveram o caso de uma mulher de 54 anos que foi admitida no hospital com história de febre, suores noturnos e cansaço. Exame físico revelou murmúrio sistólico tricúspide e esplenomegalia, e a ecocardiografia revelou vegetação da válvula tricúspide. Cultura de sangue coletada na admissão foi positiva para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* após 5 dias de admissão. Sua história clínica foi incompleta, pois não se sabia o curso da cronicidade; entretanto, este caso ilustra o pouco crescimento do micro-organismo em cultura de rotina.

Pasteurella (Caso Clínico 24-3)

Pasteurella são cocobacilos pequenos, anaeróbios facultativos, fermentadores (Fig. 24-4), comumente encontrados como comensais na orofaringe de animais saudáveis. A maioria das infecções humanas resulta do contato com animais (p.ex., mordidas de animal, arranhões, alimentos compartilhados). Pasteurella multocida (o isolado mais comum) e Pasteurella canis são patógenos humanos; as demais espécies de Pasteurella raramente são associadas a infecções humanas (Tabela 24-5). As três formas de doença seguintes são descritas: (1) celulite localizada e linfadenite que ocorrem após picada ou arranhão de animal (P. multocida do contato com cães ou gatos; P. canis de cães); (2) exacerbação de doença respiratória crônica em pacientes com disfunção pulmonar subjacente (talvez relacionada com colonização da orofaringe do

de sistêmica em paciente, seguida pela aspiração secreções orais); (3) infecção pacientes e imunocomprometidos, especialmente aqueles com doença hepática subjacente. A produção de uma cápsula polissacarídica composta por ácido hialurônico é importante fator de virulência em cepas de Pasteurella responsáveis pelas doenças em animais e, possivelmente, é importante nas infecções humanas.

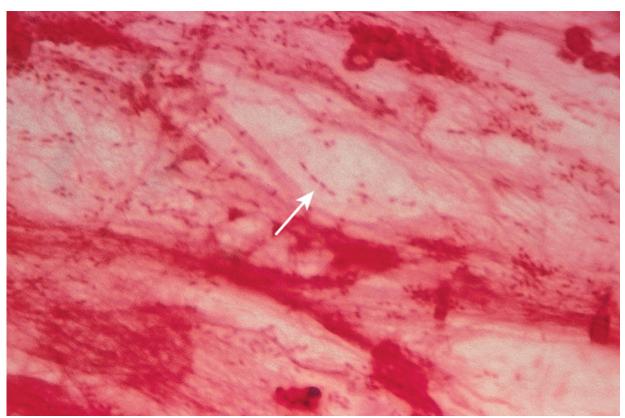


FIGURA 24-4 Pasteurella multocida em material do trato respiratório de paciente com pneumonia (seta).



Tabela 24-5

Espécies de Pasteurella Associadas a Doenças Humanas

Espécies	Doenças Primárias	Frequência
P. multocida	Infecções de ferida de mordida, doença pulmonar crônica, bacteremia, meningite	Comum
P. canis	Infecções de ferida de mordida	Incomum
P. bettyae	Infecções oportunistas (abscessos, infecções de ferida de mordida, infecções urogenitais, bacteremia)	Raro
P. dagmatis	Infecções de ferida de mordida	Raro
P. stomatis	Infecções de ferida de mordida	Raro



Caso Clínico 24-3 Infecção Fatal por Pasteurella multocida

Chang et al. (J Infect Dis 39:167-192, 2007) descreveram um caso fatal de bacteremia e fasceíte necrotizante por *Pasteurella multocida*. Um homem de 58 anos tinha história de insuficiência renal crônica, artrite gotosa e síndrome de Cushing tratadas com esteroides. No momento da admissão no hospital, sua mão esquerda estava eritematosa, quente e com máculas que evoluíram de avermelhadas a arroxeadas sobre a superfície. Durante os 2 dias seguintes, bolhas se desenvolveram e estenderam rapidamente para o braço esquerdo, panturrilha esquerda e pé direito, e o paciente teve sinais sistêmicos de choque e sangramento gastrointestinal. Culturas de sangue, coletadas no momento da admissão, foram positivas para *P. multocida*. Apesar de tratamento antibiótico agressivo e cirurgia, as lesões progrediram rapidamente e o paciente, por fim, foi a óbito. A história cuidadosa, no momento da admissão, revelou que o paciente permitiu que seu cão de estimação lambesse suas feridas abertas. É provável que esta tenha sido a fonte das bactérias, e o tratamento com esteroides permitiu que o micro-organismo invadisse as feridas e rapidamente se espalhasse pelos tecidos.

P. multocida cresce bem em ágar-sangue e ágar-chocolate, mas mal em ágar MacConkey e outros meios de cultura tipicamente seletivos para bacilos Gram-negativos. Após incubação durante a noite em ágar-sangue, colônias grandes amanteigadas, resultantes da cápsula polissacarídica, com odor característico de bolor causado pela produção de indol, podem ser visualizadas. P. multocida é sensível a uma variedade de antibióticos. A penicilina é o antibiótico de escolha, sendo que as cefalosporinas de espectro ampliado, macrolídeos, tetraciclinas ou fluoroquinolonas são alternativas aceitáveis. Penicilinas semissintéticas (p.ex., oxacilina), cefalosporinas de primeira geração e aminoglicosídeos têm baixa atividade.

Referências Bibliográficas

- Briere EC, Rubin L, Moro PL, et al. Prevention and control of *Haemophilus influenzae* type b disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Recomm Rep.* 2014;63:1–14.
- Bruce MG, Zulz T, DeByle C, et al. Haemophilus influenza serotype A invasive disease, Alaska, USA, 1983-2011. *Emerg Infect Dis*. 2013;19:932–937.
- Davis S, Feikin D, Johnson H. The effect of *Haemophilus influenzae* type B and pneumococcal conjugate vaccines on childhood meningitis mortality: a systematic review. *BMC Public Health*. 2013;13:3–21.
- Dworkin M, Park L, Borchardt S. The changing epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* disease, especially in persons >65 years old. *Clin Infect Dis.* 2007;44:810–816.
- Hallstrom T, Riesbeck K. Haemophilus influenzae and the complement system. Trends Microbiol. 2010;18:258-265.
- Norskov-Lauritsen N, Kilian M. Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus*, and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Aggregatibacter aphrophilus*, and *Aggregatibacter segnis*, respectively, and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor–dependent and V factor–independent isolates. *Int J System Evol Microbiol*. 2006;56:2135–2146.
- O'Loughlin RE, Edmond K, Mangtani P, et al. Methodology and measurement of the effectiveness of *Haemophilus influenzae* type b vaccine: systematic review. *Vaccine*. 2010;28:6128–6136.
- Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:302–317.
- Trees D, Morse S. Chancroid and Haemophilus ducreyi: an update. Clin Microbiol Rev. 1995;8:357-375.
- Tristram S, Jacobs M, Appelbaum P. Antimicrobial resistance in Haemophilus influenzae. Clin Microbiol Rev. 2007;20:368–389.
- Wang CY, Wang HC, Li JM, et al. Invasive infections of Aggregatibacter actinomycetemcomitans. J Microbiol Immunol Infect. 2010;43:491–497.

CAPÍTULO 25

Enterobacteriaceae

Este capítulo abrange a maior família de bactérias clinicamente importantes. Este grupo heterogêneo compreende microorganismos responsáveis por praticamente todos os tipos de infecções que são observadas na prática clínica.

- 1. Vários membros da família Enterobacteriaceae são parte da microbiota normal de bactérias que colonizam o corpo humano. Dê três exemplos de micro-organismos que são da microbiota normal de indivíduos saudáveis e um exemplo de doença causada por cada micro-organismo. Quais as condições em que cada micro-organismo causa doença?
- 2. Algumas Enterobacteriaceae são normalmente encontradas em animais, mas causam doença quando os seres humanos são expostos. Dê três exemplos desses micro-organismos e das doenças que eles causam.
- Algumas Enterobacteriaceae s\(\tilde{a}\) o patog\(\tilde{e}\) nicas exclusivamente para seres humanos. D\(\tilde{e}\) dois exemplos desses microorganismos e das doen\(\tilde{c}\) a que eles causam.

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Escherichia coli

Palavras-gatilho

Gastroenterite (EAEC, EIEC, EPEC, ETEC, STEC), meningite neonatal, infecção do trato urinário

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos
- Fermentadores; oxidase-negativos
- Lipopolissacarídeo consiste no polissacarídeo externo do antígeno somático O, polissacarídeo central (antígeno comum) e lipídio A (endotoxina)
- Virulência consulte o Quadro 25-2 e Tabela 25-2

Epidemiologia

- Bastonete Gram-negativo aeróbio mais comum no trato gastrointestinal
- A maioria das infecções é endógena (microbiota normal do paciente), embora as cepas que causam gastroenterite sejam geralmente adquiridas exogenamente

Doenças

- Pelo menos cinco grupos patogênicos diferentes causam gastroenterite: EAEC, E. coli enteroagregativa; EIEC, E. coli enteroinvasiva; EPEC, E. coli enteropatogênica; ETEC, E. coli enterotoxigênica; STEC, E. coli produtora de toxina Shiga.
- A maioria causa doenças nos países em desenvolvimento, embora a STEC seja uma importante causa de colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica nos Estados Unidos
- Doenças extraintestinais incluem bacteremia, meningite neonatal, infecções do trato urinário e infecções intraabdominais

Diagnóstico

- Micro-organismos crescem rapidamente na maioria dos meios de cultura
- Patógenos entéricos, com exceção de STEC, são detectados somente em laboratórios de referência ou de pesquisa

Tratamento, Prevenção e Controle

- Patógenos entéricos são tratados sintomaticamente, a menos que ocorra a disseminação da doença
- Terapia com antibióticos é orientada pelos testes de suscetibilidade *in vitro*; aumento da resistência a penicilinas e cefalosporinas mediadas por β-lactamases de espectro alargado (ESBLs)
- Práticas adequadas de controle de infecção são usadas para reduzir o risco de infecção nosocomial (p.ex., restrição ao uso de antibióticos e de cateteres urinários desnecessários)
- Manutenção dos altos padrões de higiene para reduzir o risco de exposição às cepas gastrointestinais

• Cozimento adequado dos produtos de carne bovina para reduzir o risco de infecções por STEC

Salmonella

Palavras-gatilho

Gastroenterite, febre entérica, aves de consumo, tratamento com antibiótico

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos
- Fermentadores; oxidase-negativos
- Lipopolissacarídeo consiste no polissacarídeo externo do antígeno somático O, polissacarídeo central (antígeno comum) e lipídio A (endotoxina)
- Mais de 2.500 sorotipos O
- Virulência consulte o Quadro 25-2; tolerante aos ácidos nas vesículas fagocíticas
- Pode sobreviver no macrófago e se espalhar a partir do intestino para outros locais do corpo

Epidemiologia

- A maioria das infecções é adquirida pelo consumo de alimentos contaminados (aves, ovos e laticínios são as fontes mais comuns de infecção)
- Transmissão direta orofecal em crianças
- *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi são patógenos humanos estritos (nenhum outro reservatório); essas infecções são transmitidas de pessoa a pessoa; colonização assintomática prolongada ocorre com frequência
- Indivíduos com risco de infecção são aqueles que consomem aves ou ovos malcozidos, pacientes com níveis reduzidos de ácido gástrico e os imunocomprometidos
- As infecções ocorrem no mundo inteiro, particularmente nos meses quentes do ano

Doenças

• Doenças: enterite (febre, náuseas, vômito, diarreia com ou sem sangue, cólicas abdominais) febre entérica (febre tifoide, febre paratifoide); bacteremia (geralmente causada por *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi, *Salmonella* Cholerasuis); colonização assintomática (principalmente por *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi)

Diagnóstico

• Isolamento em espécimes de fezes requer uso de meio seletivo

Tratamento, Prevenção e Controle

- Terapia com antimicrobianos não é recomendada para enterite, pois pode prolongar a duração da doença
- Infecções por Salmonella Typhi e Salmonella Paratyphi ou infecções disseminadas causadas por outros microorganismos devem ser tratadas com um antibiótico efetivo (selecionado em testes de suscetibilidade *in vitro*); fluoroquinolonas (p.ex., ciprofloxacina), cloranfenicol, sulfametoxazol-trimetoprim ou uma cefalosporina de amplo espectro podem ser usados
- A maioria das infecções pode ser controlada pela preparação adequada de aves e ovos (completamente cozidos), evitando a contaminação de outros alimentos com produtos avícolas não cozidos
- Portadores de Salmonella Typhi e Salmonella Paratyphi devem ser identificados e tratados
- Vacinação contra Salmonella Typhi pode reduzir o risco de doença em viajantes nas áreas endêmicas

Shigella

Palavras-gatilho

Gastroenterite, disenteria, pessoa a pessoa, toxina Shiga, tratamento com antibiótico

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos
- Fermentadores; oxidase-negativos
- Lipopolissacarídeo consiste no polissacarídeo externo do antígeno somático O, polissacarídeo central (antígeno comum) e lipídio A (endotoxina)
- Quatro espécies reconhecidas: S. sonnei, responsável pela maioria das infecções em países desenvolvidos; S. flexneri, responsável pelas infecções em países em desenvolvimento; S. dysenteriae, responsável pelas infecções mais graves; e S. boydii, que raramente é isolada
- Virulência consulte o Quadro 25-2; exotoxina (toxina Shiga) produzida por *S. dysenteriae* inibe a síntese de proteína e produz danos endoteliais

Epidemiologia

- Humanos são o único reservatório dessa bactéria
- Transmissão da doença ocorre de pessoa a pessoa por via orofecal

- Pacientes com alto risco para a doença são crianças pequenas em creches e instituições de custódia; irmãos e parentes dessas crianças; homossexuais do sexo masculino
- Relativamente poucos micro-organismos podem causar a doença (altamente infecciosa)
- A doença ocorre no mundo inteiro sem incidência sazonal (consistente com a transmissão de pessoa a pessoa envolvendo um inóculo baixo)

Doenças

• Doença — a forma mais comum da doença é a gastroenterite (shigelose), uma diarreia aquosa inicial que progride em 1 a 2 dias para dores abdominais e tenesmo (fezes com ou sem sangue); a forma grave da doença é causada por *S. dysenteriae* (disenteria bacteriana); um pequeno número de pacientes se torna portador assintomático (reservatório para futuras infecções)

Diagnóstico

• Isolamento em espécimes de fezes requer uso de meio seletivo

Tratamento, Prevenção e Controle

- Terapia com antimicrobianos diminui o curso da doença sintomática e a eliminação nas fezes
- O tratamento deve ser orientado pelos testes de suscetibilidade in vitro
- Terapia empírica pode ser iniciada com uma fluoroquinolona ou sulfametoxazol-trimetoprim
- Controle apropriado da infecção deve ser instituído para prevenir disseminação do micro-organismo, incluindo lavagem das mãos e descarte adequado da roupa suja

Yersinia

Palavras-gatilho

Peste bubônica, peste pneumônica, gastroenterite, sepse de transfusão, zoonótica

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos
- Fermentadores; oxidase-negativos
- Lipopolissacarídeo consiste no polissacarídeo externo do antígeno somático O, polissacarídeo central (antígeno comum) e lipídio A (endotoxina)
- Y. pestis possui uma cápsula proteica
- Algumas espécies (p.ex., *Y. enterocolitica*) podem crescer em temperaturas frias (grande quantidade de bactérias pode crescer em alimentos contaminados ou produtos sanguíneos refrigerados)
- Virulência consulte o Quadro 25-2; cápsula de *Y. pestis* é antifagocítica; *Y. pestis* é resistente aos efeitos bactericidas do soro; *Yersinia* possui genes para aderência, atividade citotóxica, inibição da migração fagocitária e engolfamento e inibição da agregação plaquetária

Epidemiologia

- *Y. pestis* é uma infecção zoonótica, e os humanos são hospedeiros acidentais; reservatórios naturais incluem ratos, esquilos, coelhos e animais domésticos
- A doença é transmitida por mordidas de pulga, contato direto com tecidos infectados ou de pessoa a pessoa, por inalação de aerossóis infectados de um paciente com doença pulmonar
- Outras infecções causadas por Yersinia são transmitidas por exposição a produtos alimentares contaminados ou produtos sanguíneos (Y. enterocolitica)
- Colonização por outras espécies de Yersinia pode ocorrer

Doenças

• *Y. pestis* causa a peste bubônica (mais comum) e a peste pulmonar, ambas com alta taxa de mortalidade; outras espécies de *Yersinia* causam gastroenterite (diarreia aquosa aguda ou diarreia crônica) e sepse relacionada com a transfusão; doença entérica em crianças pode se manifestar como nódulos linfáticos mesentéricos aumentados e doença parecida com a apendicite aguda

Diagnóstico

• Micro-organismos crescem na maioria dos meios de cultura; estocagem prolongada a 4°C pode favorecer o isolamento seletivo

Tratamento, Prevenção e Controle

- Infecções causadas por *Y. pestis* são tratadas com estreptomicina; como terapia alternativa, podem ser administrados tetraciclina, cloranfenicol ou sulfametoxazol-trimetoprim
- Infecções entéricas causadas por outras espécies de *Yersinia* geralmente são autolimitadas. Se o tratamento com antibióticos for indicado, a maioria dos micro-organismos é suscetível às cefalosporinas de amplo espectro, aminoglicosídeos, cloranfenicol, tetraciclinas e sulfametoxazol-trimetoprim
- A peste pode ser controlada pela redução da população de roedores e vacinação de indivíduos sob risco

• Outras infecções causadas por Yersinia são controladas pela preparação adequada de produtos alimentares

A família Enterobacteriaceae é o maior e mais heterogêneo grupo de **bacilos Gram-negativos** de importância médica. Mais de cinquenta gêneros e centenas de espécies e subespécies foram descritos (Tabela 25-1). Esses gêneros têm sido classificados com base nas propriedades bioquímicas, estrutura antigênica e análise molecular dos seus genomas por sequenciação de genes e composição proteica por espectrometria de massa. Apesar da complexidade dessa família, a maioria das infecções humanas são causadas por relativamente poucos gêneros e espécies (Quadro 25-1).



Tabela 25-1

Enterobacteriaceae Importantes

Organismo	Derivação Histórica	
Escherichia coli	escherichia, nomeado segundo Escherich; coli, de cólon	
Salmonella enterica	salmonella, nomeado segundo Salmon; enteron, intestino; pertence ao intestino	
Salmonella Typhi	typhi, de tifoide; a doença é a febre tifoide	
Salmonella Paratyphi	paratyphi, de infecção semelhantes à tifoide	
Salmonella Choleraesuis	cholera, cólera; sus, porco; cólera do porco	
Salmonella Typhimurium	typhi, de tifoide; murium, de camundongos; typhimurium, tifoide do camundongo	
Salmonella Enteritidis	enteris, intestino; idis, inflamação	
Shigella dysenteriae	shigella, nomeado segundo Shiga; dysenteriae, disenteria	
Shigella flexneri	flexneri, nomeado segundo Flexner	
Shigella boydii	boydii, nomeado segundo Boyd	
Shigella sonnei	sonnei, nomeado segundo Sonne	
Yersinia pestis	yersinia, nomeado segundo Yersin; pestis, peste	
Yersinia enterocolitica	enterocolitica, pertence ao intestino e cólon	
Yersinia pseudotuberculosis	tuberculum, pequena tumescência; pseudotuberculosis, falsa tumescência	
Klebsiella pneumoniae	klebsiella, nomeado segundo Klebs; pneumoniae, inflamação dos pulmões	
Klebsiella oxytoca	oxus, ácido; tokos, produtor; produtor de ácido (referência a propriedades bioquímicas)	
Proteus mirabilis	proteus, um Deus capaz de mudar-se em diferentes formas; mirabilis, surpreendente; referência às formas pleomórficas das colônias	
Citrobacter freundii	citrus, limão; bacter, bacilo; bacilo utilizador de citrato; freundii, nomeado segundo Freund	
Citrobacter koseri	koseri, nomeado segundo Koser	
Enterobacter aerogenes	enteron, intestino; bacter, pequeno bacilo; aeros, ar; genes, produtor; pequeno bacilo intestinal produtor de gás	
Enterobacter cloacae	cloacae, de esgoto; originalmente isolado no esgoto	
Serratia marcescens	serratia, nomeada segundo Serrati; marcescens, tornar-se fraco, desaparecer; originalmente acreditava-se não ser virulenta	



Quadro 25-1 Enterobacteriaceae Comuns de Importância Médica

Citrobacter freundii, Citrobacter koseri

Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca

Morganella morganii

Proteus mirabilis

Salmonella sorotipo Typhi, sorotipos de Salmonella não tifoide

Serratia marcescens

Shigella sonnei, Shigella flexneri

Yersinia pestis, Yersinia enterocolitica, Yersinia pseudotuberculosis

As bactérias da família Enterobacteriaceae são micro-organismos **ubiquitários**, encontrados em todo o mundo no solo, na água e na vegetação. Eles fazem parte da microbiota normal da maioria dos animais, incluindo o homem. Essas bactérias causam uma variedade de doenças em humanos, incluindo um quarto a um terço de todas as bacteremias, mais de 70% das infecções do trato urinário (ITU) e muitas infecções intestinais. Alguns micro-organismos (p.ex., *Salmonella* sorotipo Typhi, espécies de *Shigella* e *Yersinia pestis*) estão **sempre associados a doenças humanas** quando presente em amostras clínicas, enquanto outros (p.ex., *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*) são comensais, membros da microbiota normal, que podem causar **infecções oportunistas**. Existe um terceiro grupo, que compreende micro-organismos que normalmente são comensais e se tornam patogênicos quando adquirem genes de virulência localizados em plasmídeos, bacteriófagos ou ilhas de patogenicidade (p.ex., *E. coli*). Infecções causadas por Enterobacteriaceae podem se originar de um reservatório animal (p.ex., a maioria das espécies de *Salmonella*, espécies de *Yersinia*), de um carreador humano (p.ex., espécies de *Shigella* e *Salmonella* Typhi) ou por meio de transmissão endógena de micro-organismos (p.ex., transmissão de *E. coli* do intestino para a cavidade peritoneal, após perfuração do intestino).

Propriedades Gerais

Fisiologia e Estrutura

Os membros da família Enterobacteriaceae são bacilos Gram-negativos de tamanho moderado (0,3 a 1,0 × 1,0 a 6,0 µm) não formadores de esporos (Fig. 25-1) que compartilham um antígeno comum (antígeno comum de enterobactéria). Todos os membros dessa família podem crescer rapidamente aeróbica e anaerobicamente (anaeróbios facultativos), em uma variedade de meios seletivos (p.ex., ágar MacConkey) e não seletivos (p.ex., ágar-sangue). As Enterobacteriaceae têm necessidades nutricionais simples, fermentam glicose, reduzem o nitrato, são catalase-positivas e oxidase-negativas. A ausência de atividade da citocromo oxidase é uma característica importante, que pode ser medida rapidamente com um teste simples e é usada para distinguir Enterobacteriaceae de outros bacilos Gram-negativos fermentadores e não fermentadores (p.ex., *Vibrio, Pseudomonas*).

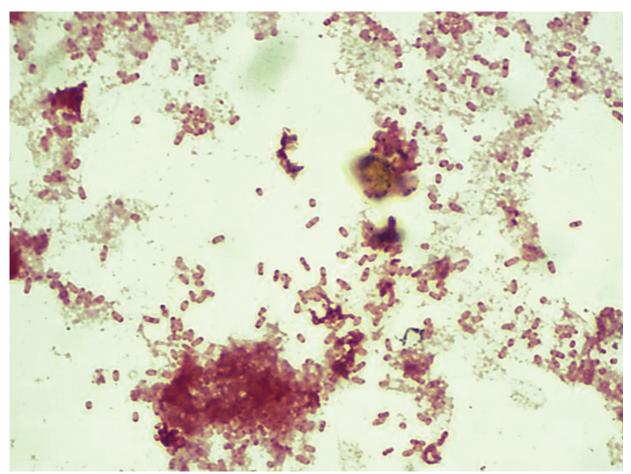
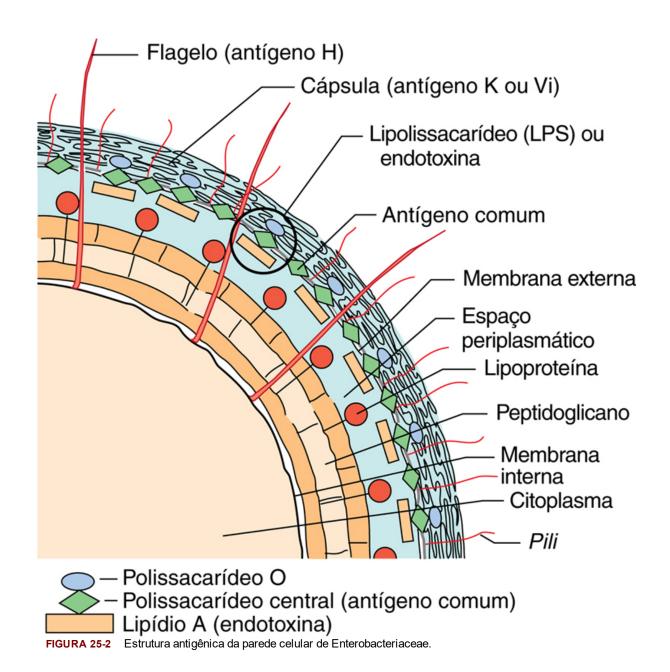


FIGURA 25-1 Coloração de Gram de *Salmonella typhi* isolada de uma hemocultura positiva. Observe a intensa coloração nas extremidades da bactéria. A "coloração bipolar" é característica das Enterobacteriaceae.

A aparência da bactéria no meio de cultura tem sido usada para diferenciar membros comuns da família Enterobacteriaceae. Por exemplo, a **fermentação de lactose** (detectada por mudança da cor em meios contendo lactose, tais como o ágar de MacConkey comumente usado) tem sido utilizada para diferenciar alguns agentes patogênicos entéricos que não fermentam a lactose ou fazem-no lentamente (p.ex., *Salmonella, Shigella* e *Yersinia* spp. — colônias incolores em ágar de MacConkey) de espécies fermentadoras de lactose (p.ex., *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter* e *Serratia* —

colônias rosa-arroxeadas em ágar de MacConkey). **Resistência aos sais biliares** em alguns meios seletivos também é usada para distinguir patógenos entéricos (p.ex., *Shigella* e *Salmonella*) dos micro-organismos comensais que são inibidos pelos sais biliares (p.ex., bactérias Gram-positivas e algumas Gram-negativas presentes no trato gastrointestinal [GI]). Dessa forma, a utilização de meios de cultura que avaliam a fermentação da lactose e a resistência aos sais biliares é um teste de rastreio rápido de agentes patogênicos entéricos que, de outro modo, seriam difíceis de detectar em amostras de fezes diarreicas onde muitos organismos diferentes podem estar presentes. Algumas Enterobacteriaceae, tais como a *Klebsiella*, também são caracteristicamente mucoides (colônias úmidas, amontoadas e viscosas) com **cápsulas** proeminentes, ao passo que uma camada limosa difusa envolve outras cepas.

O lipopolissacarídeo (LPS) termoestável é o principal antígeno da parede celular e consiste em três componentes: o polissacarídeo O somático mais externo, um polissacarídeo central comum a todas as Enterobacteriaceae (antígeno comum de enterobactéria) e o lipídio A (Fig. 25-2). O polissacarídeo central é importante para a classificação do microorganismo como um membro da família Enterobacteriaceae; o polissacarídeo O é importante para a classificação epidemiológica das cepas dentro da espécie; e o lipídio A, componente do LPS, é responsável pela atividade endotóxica, um importante fator de virulência.



A classificação epidemiológica (sorológica) das Enterobacteriaceae se baseia em três principais grupos de antígenos: o polissacarídeo O somático, o antígeno capsular (K) (polissacarídeos tipo-específicos) e as proteínas flagelares (H). Antígenos O cepa-específicos estão presentes em cada gênero e espécie, embora reações cruzadas entre gêneros relacionados sejam comuns (p.ex., Salmonella com Citrobacter, Escherichia com Shigella). Os antígenos K não são comumente usados para tipagem das cepas, mas são importantes, pois podem interferir na detecção dos antígenos O. Os antígenos H proteicos de flagelina são termolábeis. A detecção destes vários antígenos tem significado clínico importante além das investigações epidemiológicas — algumas espécies patogênicas de bactérias estão associadas a sorotipos O e H específicos (p.ex., E. coli O157:H7 está associada à colite hemorrágica).

A maioria das enterobactérias é móvel, com a exceção de alguns gêneros (p.ex., *Klebsiella, Shigella* e *Yersinia*). As cepas móveis são revestidas por **flagelos** (peritríquios). Muitas enterobactérias possuem fímbrias (também conhecidas como *pili*), que são subdivididas em duas classes: fímbrias comuns cromossomicamente mediadas e pili sexuais codificados por plasmídeos. As **fímbrias comuns** são importantes para a aderência bacteriana aos receptores específicos das células do hospedeiro, enquanto os *pili* **conjugativos** ou **sexuais** facilitam a transferência genética entre bactérias.

Patogênese e Imunidade

Numerosos fatores de virulência foram identificados nos membros da família Enterobacteriaceae. Alguns são comuns para todos os gêneros (Quadro 25-2) e outros são únicos de cepas virulentas específicas.



Quadro 25-2 Fatores de Virulência Comuns Geralmente Associados à

Enterobacteriaceae

Endotoxina

Cápsula

Variação de fase antigênica

Sistemas secretórios tipo III

Sequestro de fatores de crescimento

Resistência aos efeitos bactericidas do soro

Resistência aos antimicrobianos

Endotoxina

A endotoxina é um fator de virulência encontrado em bactérias Gram-negativas aeróbias e algumas anaeróbias. A atividade dessa toxina depende do lipídio A, componente do LPS, que é liberado na lise celular. Muitas manifestações sistêmicas das infecções por bactérias Gram-negativas são iniciadas pela endotoxina que ativa o complemento, causa liberação de citocinas, leucocitose, trombocitopenia, coagulação intravascular disseminada, febre, diminuição da circulação periférica, choque e morte.

Cápsula

As enterobactérias encapsuladas são protegidas da fagocitose pelos antígenos capsulares hidrofílicos, que repelem a superfície hidrofóbica da célula fagocítica. Esses antígenos interferem na ligação dos anticorpos à bactéria, são pouco imunogênicos e incapazes de ativar o complemento. O papel protetor da cápsula diminui se o paciente desenvolve anticorpos específicos contra a cápsula.

Variação de Fase Antigênica

As expressões dos antígenos somático O, capsular K e flagelar H estão sob controle genético do micro-organismo. Cada um desses antígenos pode ser alternadamente expresso ou não (variação de fase), uma característica que protege a bactéria da morte mediada por anticorpo.

Sistemas de Secreção Tipo III

Uma variedade de bactérias (p.ex., Yersinia, Salmonella, Shigella, Escherichia enteropatogênica, Pseudomonas e Chlamydia) tem um sistema efetor comum para levar seus fatores de virulência às células eucarióticas-alvo. O sistema secretório tipo III pode ser imaginado como uma seringa molecular com aproximadamente 20 proteínas que facilitam a transferência de fatores de virulência bacterianos para as células-alvo do hospedeiro. Embora os fatores de virulência e seus efeitos sejam diferentes entre os vários bacilos Gram-negativos, o mecanismo pelo qual os fatores de virulência são introduzidos é o mesmo. Na ausência do sistema secretório tipo III, a bactéria tem sua virulência diminuída.

Sequestro de Fatores de Crescimento

O meio de cultura enriquecido fornece nutrientes ao micro- organismo, mas quando a bactéria cresce *in vivo* deve se tornar um predador para obter nutrientes. O ferro é um importante fator de crescimento, necessário para a bactéria, mas está ligado às **proteínas heme** (p.ex., hemoglobina, mioglobina) ou às **proteínas quelantes de ferro** (p.ex., transferrina, lactoferrina). A bactéria contra-ataca produzindo seus próprios **sideróforos** ou compostos quelantes de ferro (p.ex., **enterobactina**, **aerobactina**). O ferro também pode ser liberado das células hospedeiras por hemolisinas produzidas pelas bactérias.

Resistência ao Efeito Bactericida do Soro

Enquanto muitas bactérias podem ser rapidamente eliminadas do sangue, micro-organismos virulentos são capazes de produzir infecções sistêmicas e com frequência resistem à morte mediada pelo soro. Além de a cápsula bacteriana proteger o micro-organismo da morte pelo soro, outros fatores impedem a ligação do complemento à bactéria e a subsequente eliminação da bactéria mediada pelo complemento.

Resistência aos Antimicrobianos

Tão rapidamente quanto novos antibióticos são inseridos, os micro-organismos podem desenvolver resistência a eles. Essa resistência pode ser codificada por plasmídeos transferíveis e trocada entre as espécies, gêneros e mesmo famílias de bactérias.

Escherichia coli

E. coli é o mais comum e mais importante membro do gênero *Escherichia*. Esse micro-organismo está associado a uma variedade de doenças, incluindo gastroenterite e infecções extraintestinais como ITU, meningites e sepses. Uma variedade de cepas pode causar doenças, sendo alguns sorotipos associados à maior virulência (p.ex., *E. coli* O157 é a causa mais comum de colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica).

Patogênese e Imunidade

E. coli possui uma variedade de fatores de virulência (Tabela 25-2). Além de fatores comuns a todos os membros da família Enterobacteriaceae, cepas de *E. coli* possuem fatores de virulência específicos que podem ser organizados em duas categorias principais: adesinas e exotoxinas. A função desses fatores será discutida em detalhes nas seções seguintes.



Tabela 25-2

Fatores de Virulência Especializados e Associados à Escherichia coli

Bactéria	Adesinas	Exotoxinas	
ETEC	Antígenos de colonização (CFA/I, CFA/II, CFA/III)	Toxina termolábil (LT-1); toxina termoestável (STa)	
EPEC	PFF; intimina		
EAEC	Fímbria de aderência agregativa (AAF/I, AAF/II, AAF/III)	Toxina enteroagregativa termoestável (EAST); toxina codificada pelo plasmídeo (Pet)	
STEC	PFF, intimina	Toxinas Shiga (Stx1, Stx2)	
EIEC	Antígeno de plasmídeo invasivo (Ipa)	Hemolisina (HlyA)	
Uropatógenos	Pili P; fímbria Dr		

PFF, Pili formadores de feixe; EAEC, E. coli enteroagregativa; EIEC, E. coli enteroinvasora; EPEC, E. coli enteropatogênica; ETEC, E. coli enterotoxigênica; STEC, E. coli produtora de toxina Shiga.

Epidemiologia

E. coli está presente no trato GI em grande número. Embora esses micro-organismos possam ser patógenos oportunistas quando os intestinos são perfurados e a bactéria entra no peritônio, a maioria das cepas de *E. coli* que causam doenças GI e extraintestinais adquiriu fatores de virulência específicos codificados nos plasmídeos ou no DNA de bacteriófagos. A eficiência de *E. coli* como um patógeno é ilustrada por ser: (1) o bacilo Gram-negativo mais comum isolado de pacientes com sepse (Fig. 25-3); (2) responsável por causar mais de 80% de todas as ITUs adquiridas na comunidade, assim como muitas infecções hospitalares; e (3) uma causa relevante de gastroenterite em países em desenvolvimento. A maioria das infecções é endógena (com exceção da meningite neonatal e gastroenterite), ou seja, a *E. coli* que faz parte da microbiota normal do paciente é capaz de estabelecer infecção quando as defesas do paciente estão comprometidas (p.ex., devido a trauma ou supressão da resposta imune).

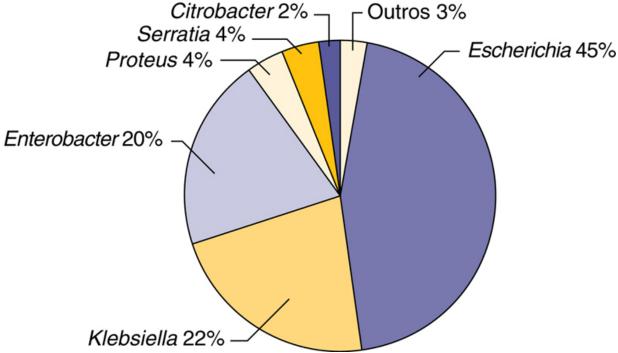


FIGURA 25-3 Incidência de Enterobacteriaceae associada à bacteremia. (Dados cortesia de Barnes-Jewish Hospital, St Louis, Mo.)

Doenças Clínicas

Gastroenterite

As cepas de *E. coli* que causam gastroenterite são subdivididas em certo número de grupos. Cinco desses grupos serão foco deste capítulo: *E. coli* enterotoxigênica, enteropatogênica, enteroagregativa, produtora de toxinas Shiga e enteroinvasiva (Tabela 25-3). Os três primeiros grupos causam uma diarreia secretora envolvendo o intestino delgado; e, nos dois últimos grupos, a infecção geralmente envolve o intestino grosso.

Gastroenterite Causada por Escherichia coli

Micro-organismo	Local de Ação	Doença	Patogênese	Diagnóstico
E. coli enterotoxigênica (ETEC)	Intestino delgado	Diarreia dos viajantes, diarreia infantil em países em desenvolvimento, diarreia aquosa, vômito, cólicas, náuseas, febre baixa	Enterotoxinas mediadas por plasmídeo, termoestáveis (TE) e termolábeis (TL) que estimulam a hipersecreção de fluidos e eletrólitos	A maioria dos surtos nos Estados Unidos são causados por cepas produtoras de TE; imunoensaios comerciais disponíveis para a detecção de ST em amostras clínicas e culturas; testes de PCR são usados em espécimes clínicos
E. coli enteropatogênica (EPEC)	Intestino delgado	Diarreia infantil em países em desenvolvimento, diarreia aquosa e vômito, fezes sem sangue; parece ser rara nos Estados Unidos	Histopatologia A/E mediada por plasmídeo, com destruição das estruturas normais das microvilosidades, causando má absorção e diarreia	Aderência característica a células HEp-2 ou HeLa; sondas e testes de amplificação (PCR) desenvolvidos para detecção dos pili formadores de feixe codificada pelo plasmídeo e de genes-alvo no locus LEE (locus of enterocyte effacement) da ilha de patogenicidade
E. coli enteroagregativa (EAEC)	Intestino delgado	Diarreia infantil em países em desenvolvimento e, possivelmente, em países desenvolvidos; diarreia dos viajantes; diarreia aquosa persistente com vômito, desidratação e febre baixa	Aderência agregativa mediada por plasmídeo dos bastonetes (aspecto de tijolos empilhados) com encurtamento das microvilosidades, infiltração de mononucleares e hemorragia; diminuição da absorção de fluidos	Aderência característica em células HEp-2; sondas de DNA e testes de amplificação (PCR) desenvolvidos para detecção do plasmídeo conservado
E. coli produtora de toxina Shiga (STEC)	Intestino grosso	Diarreia aquosa inicial seguida de diarreia sanguinolenta (colite hemorrágica) com cólicas abdominais; pouca ou nenhuma febre; pode progredir para a síndrome hemolítico-urêmica (SHU)	STEC desenvolvida a partir de EPEC; lesões com destruição das microvilosidades intestinais, resultando em diminuição da absorção; patologia mediada pelas toxinas Shiga citotóxicas (Stx1, Stx2), que inibem a síntese de proteínas	Detecção de O157:H7 em ágar- sorbitol MacConkey; confirmação por sorotipagem; imunoensaios (ELISA, aglutinação em látex) para detecção das toxinas Stx em amostras de fezes e bactérias cultivadas; testes de amplificação de DNA para detecção de genes Stx
E. coli enteroinvasiva (EIEC)	Intestino grosso	Rara em países em desenvolvimento; febre, cólicas, diarreia aquosa; pode progredir para disenteria com fezes sanguinolentas	Invasão mediada por plasmídeo e destruição das células epiteliais que revestem o cólon	Teste de Sereny (cerato conjuntivite em cobaia); ensaio com células HeLa, sondas e testes de amplificação de genes que regulam a invasão (não discriminam entre EIEC e Shigella)

A/E, lesão attachment/effacement; DNA, ácido desoxirribonucleico; ELISA, ensaio imunossorvente ligado à enzima; TL, toxina lábil; PCR, reação em cadeia da polimerase; TE, toxina estável.

E. coli Enterotoxigênica

E. coli enterotoxigênica (ETEC) é uma das causas mais comuns de doença diarreica bacteriana nos países em desenvolvimento (número estimado de 840 milhões de casos por ano) e em cerca de 30% dos viajantes a estes países com doenças diarreicas. Uma vez que o inóculo para a doença é alto, as infecções são adquiridas principalmente através do consumo de alimentos ou água contaminada com fezes. A transmissão de pessoa a pessoa não ocorre. A diarreia secretora causada por ETEC desenvolve-se após um período de incubação de 1 a 2 dias e persiste durante uma média de 3 a 5 dias. Os sintomas (diarreia aquosa sem sangue e cólicas abdominais; menos comumente náuseas e vômitos) são semelhantes aos da cólera, mas geralmente mais suaves, embora a mortalidade seja elevada em indivíduos desnutridos e naqueles com doenças subjacentes, em especial crianças e idosos.

A doença requer fixação bacteriana ao epitélio intestinal do intestino delgado pelas proteínas de superfície das bactérias (fatores de colonização [CF]) e elaboração de enterotoxinas termoestáveis e termolábeis. Os genes para os fatores de colonização e enterotoxinas são codificados em um plasmídeo transmissível. Os fatores de colonização são subdivididos em

famílias (CFA/I, CFA/IV são os mais comuns), e subdivididos adicionalmente pelas suas propriedades antigênicas (antígenos de superfície da coli [CS]). Mais de 20 fatores de colonização CS foram descritos, e a especificidade do hospedeiro é definida pelas suas afinidades com os receptores nas células hospedeiras.

A ETEC produz duas classes de enterotoxinas: toxinas termoestáveis (STa e STb) e toxinas termolábeis (LT-I, LT-II). A toxina termoestável STa, mas não a STb, está associada a doenças humanas, encontra-se em 75% a 80% da ETEC, quer isolada ou associada a LT, e é mais comumente responsável por doença grave que apenas as cepas de ETEC com LT isoladamente. A STa é um pequeno peptídeo monomérico que se liga ao receptor transmembranar da guanilato ciclase C no epitélio intestinal, conduzindo a um aumento de monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) e subsequente hipersecreção de fluidos, bem como a inibição da absorção de fluido. Das toxinas termolábeis, a LT-I é em geral mais associada a doenças humanas. LT-I é funcional e estruturalmente semelhante à toxina cólera (80% de homologia) e consiste em uma subunidade A e cinco subunidades B idênticas. As subunidades B se ligam ao mesmo receptor da toxina colérica (gangliosídeos GM₁), bem como a outras glicoproteínas de superfície das células do epitélio no intestino delgado. Após endocitose, a subunidade A sofre translocação através da membrana do vacúolo. A subunidade A tem atividade difosfato de adenosina (ADP)-ribosiltransferase e interage com uma proteína de membrana (Gs) que regula a adenilato ciclase. O resultado final dessa interação é um aumento dos níveis de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), com aumento da secreção de cloro e diminuição da absorção de sódio e cloro. Essas alterações são manifestadas na diarreia aquosa. A exposição da toxina também estimula a secreção de prostaglandina e produção de citocinas inflamatórias, resultando em perda de fluido.

E. coli Enteropatogênica

Dois grupos de *E. coli* responsáveis pela doença entérica (*E. coli* enteropatogênica [EPEC] e algumas *E. coli* produtoras de toxina Shiga [STEC]) possuem um conglomerado de genes de virulência localizados em uma ilha cromossômica de patogenicidade chamada de *locus of enterocyte effacement* (LEE), ou local de destruição de enterócitos. As bactérias do grupo EPEC heterogênea foram as primeiras cepas de *E. coli* associadas a surtos de doenças diarreicas relatados nas décadas de 1940 e 1950. Elas eram originalmente caracterizadas pelos sorotipos específicos responsáveis por cada surto, mas agora estão definidas por (1) presença de LEE e (2) ausência de toxina Shiga. As EPECs são ainda subdivididas em cepas típicas e atípicas com base na presença ou ausência do **plasmídeo de** *E. coli* do fator de aderência (EAF). A doença esporádica e surtos são relativamente raros nos países desenvolvidos e, agora, são relatados apenas esporadicamente em países pobres, com a doença sobretudo em crianças e mais comumente associada às cepas atípicas. É transmitida pela exposição fecal-oral de superfícies contaminadas ou produtos alimentares. Os seres humanos são a única fonte de cepas típicas, enquanto tanto os humanos como uma variedade de hospedeiros animais são reservatórios de cepas atípicas.

A infecção é iniciada pela fixação bacteriana às células epiteliais do intestino delgado, com subsequente effacement (destruição) das microvilosidades (histopatologia attachment/effacement [A/E]). A agregação inicial da EPEC típica que conduz à formação de microcolônias na superfície da célula epitelial é mediada por pili formadores de feixe (PFF) codificados por plasmídeos; todavia, este plasmídeo não está presente na EPEC atípica. Os estágios subsequentes da adesão são regulados por genes codificados na ilha de patogenicidade LEE. Esta ilha de mais de 40 genes é responsável pela fixação e destruição da superfície da célula hospedeira. Após a adesão frouxa, secreção ativa de proteínas bacterianas na célula epitelial do hospedeiro ocorre pelo sistema bacteriano de secreção de tipo III. Uma proteína, receptor de translocação da intimina (Tir), é inserida na membrana das células epiteliais e funciona como um receptor para uma adesina bacteriana da membrana externa, intimina. A ligação da intimina ao Tir resulta na polimerização da actina, acumulação de elementos do citoesqueleto sob as bactérias aderidas, perda da integridade da superfície celular e eventual morte celular.

A doença ocorre principalmente em crianças com idade inferior a 2 anos e é caracterizada por **diarreia aquosa** que pode ser grave e prolongada e muitas vezes acompanhada de febre e vômitos. O início da doença pode ser tão rápido quanto algumas horas após a ingestão de EPEC, e, embora a maioria das infecções se resolva após alguns dias, a diarreia persistente requerendo hospitalização pode ocorrer.

E. coli Enteroagregativa

As *E. coli* enteroagregativas (EAECs) são um conjunto heterogêneo de cepas caracterizadas pela sua autoaglutinação em um arranjo de "tijolos empilhados" sobre o epitélio do intestino delgado e, em alguns casos, sobre o cólon. A prevalência da doença causada por EAEC está pouco clara, porque um marcador molecular único para essas bactérias não foi descoberto. Genes que codificam as adesinas, toxinas que incluem a Shiga e outras proteínas de virulência são altamente variáveis entre EAEC. No entanto, análises abrangentes de surtos, tanto em países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento, têm demonstrado que essas bactérias são comuns. Surtos de gastroenterite causados por EAEC também foram relatados nos Estados Unidos, Europa e Japão e são, provavelmente, uma importante causa de diarreia infantil nos países desenvolvidos. Estas são uma das poucas bactérias associadas a diarreia crônica e atraso do crescimento em crianças. Caracteristicamente, após adesão ao epitélio, a liberação de citocinas é estimulada, o que resulta no recrutamento dos neutrófilos e a progressão para uma diarreia inflamatória. A doença é caracterizada por uma diarreia secretora aquosa, muitas vezes com células inflamatórias e acompanhada por febre, náuseas, vômitos e dor abdominal. Este processo pode ser agudo ou progredir para uma diarreia persistente, particularmente em crianças e pacientes infectados com HIV.

A nomenclatura para este grupo de *E. coli* é confusa, referindo-se a elas como *E. coli* produtoras de toxina Shiga (STEC), *E. coli* produtora de verocitotoxina (VTEC) e *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC). Para fornecer alguma clareza, considera-se a VTEC um nome ultrapassado e a EHEC um subconjunto de STEC. Todos os membros desse grupo são definidos pela presença de uma toxina Shiga 1 (Stx1) ou 2 (Stx2). Algumas, mas não todas as cepas de EHEC, são LEE positivas e formam citopatologia A/E assemelhando-se às cepas de EPEC. A classificação das STECs é adicionalmente complicada, porque o sorotipo mais comum associado à doença humana é a O157: H7, e os esforços iniciais para diagnosticar a doença foram determinar se o patógeno suspeito era desse sorotipo. É agora reconhecido que embora O157:H7 seja o sorotipo mais comum associado a doenças graves no homem, ele representa menos de 50% dos sorotipos responsáveis. Além disso, os sorotipos prevalentes variarão geograficamente. Assim, o diagnóstico da doença por STEC é agora realizado com base na detecção das toxinas Shiga em vez de sorotipagem de isolados suspeitos.



Caso Clínico 25-1 Surto Multiestadual de Infecções Causadas por Escherichia

coli Produtora de Toxina Shiga (STEC)

Em 2006, a *Escherichia coli* O157 foi responsável por um grande surto multiestadual de gastroenterite. O surto foi associado à contaminação do espinafre, com um total de 173 casos descritos em 25 estados, por um período de 18 dias. O surto resultou na hospitalização de mais de 50% dos pacientes com doença documentada, uma taxa de 16% de síndrome hemolítico-urêmica e uma morte. Apesar da ampla distribuição do espinafre contaminado, a divulgação do surto e a rápida determinação da fonte responsável pelo surto prontamente resultaram na remoção do espinafre dos estoques dos supermercados e no fim do surto. Isso ilustra como a contaminação de um produto alimentar, mesmo com pequeno número de micro-organismos, pode levar a um surto disseminado com um micro-organismo particularmente virulento como as cepas de STEC.

Vários programas nacionais foram estabelecidos nos Estados Unidos, Canadá, Europa e Austrália para monitorar as doenças transmitidas por alimentos e documentaram uma prevalência generalizada da doença por STEC nesses países, bem como em outros países onde os surtos têm sido reportados. Estima-se que essas bactérias causam 73.000 infecções e 60 mortes por ano nos Estados Unidos, embora o alerta da existência desses patógenos esteja agora associado a uma diminuição global na prevalência. A doença causada por STEC ocorre com mais frequência nos meses quentes e apresenta maior incidência em crianças com menos de 5 anos. A maioria das infecções é atribuída ao consumo de carne moída malcozida ou outros produtos derivados da carne, água, leite não pasteurizado, suco de frutas (p.ex., cidra feita com maçãs contaminadas com fezes de bovinos), vegetais malcozidos como espinafre, e frutas. A **ingestão de menos de 100 bactérias pode causar a doença**, e a transmissão cruzada entre as pessoas também ocorre.

A doença causada por STEC pode variar de uma diarreia branda sem complicações até uma **colite hemorrágica**, com dores abdominais e diarreia com sangue. A doença grave é mais comumente associada a STEC O157:H7. Inicialmente, a diarreia com dor abdominal se desenvolve em pacientes após 3 a 4 dias de incubação. Em cerca de metade dos pacientes se observa vômito, mas geralmente não ocorre febre alta. Após um período de 2 dias de latência, a doença progride para uma diarreia sanguinolenta com dores abdominais intensas em 30% a 65% dos pacientes. Na maioria dos pacientes não tratados, os sintomas desaparecem completamente entre 4 e 10 dias. A **síndrome hemolítico-urêmica (SHU)**, uma desordem caracterizada por falha renal aguda, trombocitopenia e anemia hemolítica microangiopática, é uma complicação que ocorre em 5% a 10% das crianças com menos de 10 anos infectadas por EHEC. Na maioria dos pacientes não tratados, os sintomas desaparecem entre 4 e 10 dias. Porém, óbito pode ocorrer em 3% a 5% dos pacientes com SHU, e sequelas graves (p.ex., insuficiência renal, hipertensão, manifestações do sistema nervoso central) podem ocorrer em até 30% dos pacientes com SHU.

A Stx1 é idêntica à toxina Shiga produzida pela *Shigella dysenteriae* (daí a origem do nome), e a Stx2 tem 60% de homologia. Ambas as toxinas são adquiridas por bacteriófagos lisogênicos. Essas toxinas apresentam uma subunidade A e cinco subunidades B que se ligam ao glicolipídio específico na célula hospedeira (globotriaosilceramida [Gb3]). Uma elevada concentração de receptores Gb3 é encontrada nas vilosidades intestinais e nas células endoteliais renais. Após internalização, a subunidade A é clivada em duas moléculas, produzindo o fragmento A1 que se liga ao ácido ribonucleico ribossômico 28S (RNAr) e causa o bloqueio da síntese de proteínas. As cepas STEC que produzem as duas toxinas Shiga e lesão A/E são mais patogênicas que as cepas que produzem apenas uma toxina Shiga.

SHU tem sido associada à produção de Stx2, que é capaz de destruir as células endoteliais do glomérulo. Os danos às células endoteliais levam à ativação de plaquetas e à deposição de trombina, que resultam na diminuição da filtração glomerular e falha renal aguda. As toxinas Shiga também estimulam a expressão de citocinas inflamatórias (p.ex., fator de necrose tumoral [TNF]- γ , interleucina [IL]-6) que aumentam a expressão do receptor Gb3 da subunidade B.

E. coli Enteroinvasora

As cepas de *E. coli* enteroinvasora (EIEC) são raras nos Estados Unidos e pouco frequentes nos países em desenvolvimento. As cepas patogênicas são primariamente associadas a poucos sorotipos O: O124, O143 e O164. As cepas são relacionadas com a *Shigella* por suas propriedades fenotípicas e patogênicas. As bactérias são capazes de invadir e destruir o epitélio do

cólon, produzindo uma doença caracterizada inicialmente por **diarreia aquosa**. Em uma minoria de pacientes, a doença progride para uma forma de disenteria, consistindo em febre, dores abdominais, sangue e leucócitos nos espécimes fecais.

Vários genes plasmidiais (**genes** *plnv*) estão envolvidos na invasão da bactéria no epitélio do cólon. As bactérias lisam os vacúolos fagocíticos e se multiplicam no citoplasma da célula. O movimento no citoplasma e em direção às células epiteliais adjacentes é regulado pela formação de filamentos de actina (similares àqueles observados em *Listeria*). Esse processo de destruição de células epiteliais com infiltração inflamatória pode avançar, causando ulceração do cólon.

Infecções Extraintestinais

Infecção do Trato Urinário

A maioria dos bacilos Gram-negativos que produz ITU é proveniente do cólon, contamina a uretra, ascende até a bexiga e pode migrar até o rim ou a próstata. A maioria das cepas de *E. coli* pode produzir ITU, entretanto a doença é mais comum em alguns sorogrupos específicos. Essas bactérias são em particular virulentas, pois possuem a capacidade de produzir **adesinas** (basicamente, *pili* P, AAF/I, AAF/III e Dr), que se ligam às células que revestem a bexiga e o trato urinário superior (a aderência impede a eliminação da bactéria durante a micção) e produzem a **hemolisina HlyA**, que lisa os eritrócitos e outros tipos celulares (levando à liberação de citocinas e estimulando uma resposta inflamatória).

Meningite Neonatal

As cepas de *E. coli* e estreptococos do grupo B causam a maioria das infecções do sistema nervoso central (SNC) em crianças com menos de 1 mês. Por volta de 75% das cepas de *E. coli* possuem o **antígeno capsular K1**. Esse sorogrupo também está presente no trato GI de mulheres grávidas e crianças recém-nascidas. No entanto, a razão pela qual este sorogrupo tem uma predileção por atravessar a barreira hematoencefálica e causar meningite em recém-nascidos não é compreendida.

Septicemia

Tipicamente, a septicemia causada pelos bacilos Gram-negativos, como *E. coli*, com mais frequência tem como origem as infecções dos tratos urinário e GI (p.ex., a perfuração do intestino leva a uma infecção intra-abdominal). A mortalidade associada à septicemia causada por *E. coli* é alta em pacientes cuja imunidade está comprometida ou quando a infecção primária está no abdome ou no sistema nervoso central (SNC).

Salmonella

A classificação taxonômica do gênero Salmonella é problemática. Estudos de homologia de DNA revelam que a maioria das cepas isoladas clinicamente pertence à espécie de Salmonella enterica. Já foram descritos mais de 2.500 sorotipos para esta única espécie; contudo, estes em geral são descritos como espécies individuais (p.ex., Salmonella typhi, Salmonella choleraesuis, Salmonella typhimurium e Salmonella enteritidis). Essas designações não estão corretas; por exemplo, a nomenclatura correta é Salmonella enterica, sorovar. Typhi. Num esforço para evitar essa confusão e ainda manter os termos históricos, os sorotipos individuais agora são escritos com suas iniciais em letra maiúscula e não em itálico. Por exemplo, Salmonella enterica, sorovar. Typhi é designada como Salmonella Typhi. Por uma questão de consistência, esta nomenclatura será usada neste capítulo.

Patogênese e Imunidade

Após a ingestão e passagem pelo estômago, a *Salmonella* adere à mucosa do **intestino delgado** e invade as **células M** (**microvilosidades**) localizadas nas placas de Peyer, bem como os enterócitos. As bactérias permanecem em um vacúolo endocítico, onde se multiplicam e podem ser transportadas através do citoplasma, sendo liberadas na circulação sanguínea ou linfática. A regulação da aderência, engolfamento pela membrana e multiplicação são controlados basicamente por dois grandes grupos de genes (**ilhas de patogenicidade I e II**) no cromossomo bacteriano. A ilha de patogenicidade I codifica as **proteínas de invasão secretadas por** *Salmonella* (**Ssps**) e um **sistema de secreção tipo III** que injeta as proteínas na célula hospedeira. A ilha de patogenicidade II contém os genes que permitem que a bactéria escape da resposta imune do hospedeiro e codifica um segundo sistema de secreção tipo III para esta função. A resposta inflamatória restringe a infecção ao trato GI, medeia a liberação de prostaglandinas, estimula o AMPc e ativa a secreção de fluidos.

Epidemiologia

Salmonella pode colonizar praticamente todos os animais, incluindo aves, répteis, gado, roedores, animais domésticos, pássaros e humanos. A transmissão de um animal para o outro e o uso de rações contaminadas com Salmonella mantêm o reservatório animal. Os sorotipos como Salmonella Typhi e Salmonella Paratyphi são altamente adaptados aos seres humanos e não causam doença em outros hospedeiros. Outros sorotipos de Salmonella (p.ex., Salmonella Choleraesuis) são adaptados aos animais e podem causar doença grave quando infectam humanos. Além disso, em contraste com outros sorotipos de Salmonella, as cepas que são altamente adaptadas ao homem (p.ex., Salmonella Typhi e Salmonella Paratyphi) podem sobreviver na vesícula biliar e estabelecer o estado de portador crônico. Muitas cepas de Salmonella não têm especificidade de hospedeiro e causam doenças tanto em hospedeiros humanos como em não humanos.

A maioria das infecções resulta da **ingestão** de produtos alimentares contaminados e, em crianças, se deve à transmissão orofecal. A incidência da doença é maior em crianças com menos de 5 anos e em adultos acima de 60 anos, que são comumente infectados durante os meses de verão e outono, quando os alimentos contaminados são consumidos em eventos ao ar livre. As fontes mais comuns de infecções humanas são **aves domésticas, ovos, laticínios** e alimentos preparados em superfícies contaminadas (tábuas de corte onde aves domésticas cruas foram preparadas). Em torno de 50 mil casos de infecções por *Salmonella* não tifoide são reportados anualmente nos Estados Unidos, entretanto foi estimado que ocorram 1,2 milhão de infecções e 400 mortes a cada ano. As infecções por *Salmonella* Typhi ocorrem quando são ingeridos alimentos ou água pelas mãos de pessoas contaminadas que manuseiam alimentos. Não há reservatório animal. Em média, 400 a 500 infecções por *Salmonella* Typhi são descritas anualmente nos Estados Unidos, a maioria adquirida durante viagens ao exterior. Em contraste, foi estimado que 27 milhões de infecções por *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi e mais de 200 mil mortes ocorrem a cada ano em todo o mundo. O risco da doença é alto em crianças que vivem na pobreza em países em desenvolvimento.

A dose infectante para infecções por *Salmonella* Typhi é baixa, assim a transmissão pessoa a pessoa é comum. Em contraste, é necessário um grande inóculo (p.ex., 10⁶ a 10⁸ bactérias) para o desenvolvimento de doença sintomática com a maioria dos outros sorotipos de *Salmonella*. Esses micro-organismos podem se multiplicar intensamente, se produtos de alimentos contaminados forem estocados de maneira inadequada (p.ex., deixados à temperatura ambiente). A dose infectante é baixa para pessoas com alto risco de adquirir doenças relacionadas com a idade, imunossupressão, doença subjacente (leucemia, linfoma, doença da célula falciforme) ou acidez gástrica reduzida.

Doenças Clínicas

Existem quatro formas de infecção por Salmonella: gastroenterite, septicemia, febre entérica e colonização assintomática.

Gastroenterite

A gastroenterite é a **forma mais comum de salmonelose** nos Estados Unidos. Os sintomas geralmente aparecem de 6 a 48 horas após o consumo de alimento ou água contaminados. A apresentação inicial consiste em **náuseas, vômito e diarreia sem sangue**. Também são comuns febre, cólica abdominal, mialgia e dor de cabeça. O envolvimento do cólon pode ser demonstrado na forma aguda da doença. Os sintomas podem persistir por 2 a 7 dias antes da resolução espontânea.

Septicemia

Todas as espécies de *Salmonella* podem causar bacteremia, porém infecções causadas por *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi e *Salmonella* Choleraesuis geralmente levam a uma fase de bacteremia. O risco de bacteremia por *Salmonella* é elevado em pacientes pediátricos, geriátricos e em imunocomprometidos (infecções causadas por HIV, doença falciforme, imunodeficiências congênitas). A apresentação clínica da bacteremia causada por *Salmonella* é parecida com as bacteremias causadas por outras bactérias Gram-negativas; entretanto, infecções supurativas localizadas (p.ex., osteomielite, endocardite, artrite) podem ocorrer em até 10% dos pacientes.

Febre Entérica (Caso Clínico 25-2)

Salmonella Typhi produz uma doença febril chamada **febre tifoide**. Uma forma mais branda da doença, referida como **febre paratifoide**, é causada pela Salmonella Paratyphi A, Salmonella Schottmuelleri (antiga Salmonella Paratyphi B) e Salmonella Hirschfeldii (antiga Salmonella Paratyphi C). Outros sorotipos de Salmonella raramente produzem uma síndrome similar. As bactérias responsáveis pela febre entérica atravessam as células que revestem o intestino e são engolfadas pelos macrófagos. Elas se multiplicam depois de transportadas para o fígado, baço e para a medula óssea. Dez a 14 dias após a ingestão das bactérias, os pacientes gradualmente experimentam febre crescente com complicações não específicas de dores de cabeça, mialgias, mal-estar e anorexia. Esses sintomas persistem por 1 semana ou mais e são acompanhados de sintomas GI. Esse ciclo corresponde a uma fase inicial de bacteremia que é acompanhada da colonização da vesícula biliar e reinfecção dos intestinos. A febre entérica é uma doença clínica séria e deve ser suspeitada em pacientes febris que viajaram recentemente para países em desenvolvimento onde a doença é endêmica.



Caso Clínico 25-2 Infecção Causada por Salmonella Typhi

Foi descrito por Scully et al (*N Engl J Med* 345:201-205, 2007) um caso no qual uma mulher de 25 anos foi admitida em um hospital de Boston com histórico de febre persistente que não respondeu a amoxicilina, acetaminofeno ou ibuprofeno. Essa paciente residia nas Filipinas e estava viajando pelos Estados Unidos durante os 11 dias anteriores. O exame físico revelou febre, aumento do fígado, dor abdominal e urinálise anormal. Culturas de sangue obtidas após a admissão no hospital foram positivas para *Salmonella* Typhi. A terapia antimicrobiana foi escolhida, considerando a suscetibilidade do micro-organismo isolado às fluoroquinolonas. Após 4 dias, a paciente se recuperou da febre e foi liberada do hospital para voltar para às Filipinas. Embora a febre tifoide possa ser um séria ameaça à vida, ela pode inicialmente se apresentar com sintomas não específicos, como visto neste caso.

As cepas de *Salmonella* responsáveis pela febre tifoide e paratifoide são mantidas por colonização em humanos. A **colonização crônica** por mais de um ano após a doença sintomática ocorre em 1% a 5% dos pacientes, e a vesícula biliar é o principal reservatório na maioria dos pacientes. A colonização crônica com outras espécies de *Salmonella* ocorre em menos de 1% dos pacientes e não representa uma fonte importante de infecção humana.

Shigella

A classificação taxonômica usada em geral para *Shigella* é simples, todavia é tecnicamente incorreta. Quatro espécies consistindo em quase 50 sorogrupos baseados nos antígenos O foram descritas: *S. dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydii* e *Shigella sonnei*. Entretanto, a análise do DNA determinou que essas quatro espécies são realmente biogrupos de *E. coli*. Como ficaria confuso se referir a essas bactérias como *E. coli*, o nome histórico foi mantido.

Patogênese e Imunidade

Shigella causa doença invadindo e se multiplicando nas células que revestem o cólon. Os genes estruturais codificam proteínas envolvidas na aderência dos micro-organismos às células hospedeiras, bem como na invasão, multiplicação intracelular e transmissão célula a célula. Esses genes são encontrados em um grande plasmídeo de virulência, mas são regulados por genes cromossômicos. Assim, a presença do plasmídeo não assegura atividade do gene funcional.

As espécies de *Shigella* parecem incapazes de se ligar às células diferenciadas da mucosa; em vez disso, elas inicialmente aderem e invadem as células M localizadas nas placas de Peyer. O **sistema secretório tipo III** secreta quatro proteínas (**IpaA, IpaB, IpaC** e **IpaD**) dentro das células epiteliais e dos macrófagos. Essas proteínas induzem ondulações da membrana das células-alvo, levando ao engolfamento da bactéria. *Shigella* lisa o vacúolo do fagócito e se multiplica no citoplasma da célula hospedeira (diferindo de *Salmonella*, que se multiplica no vacúolo). Com o rearranjo dos filamentos de actina na célula hospedeira, as bactérias são impulsionadas do citoplasma para as células adjacentes, ocorrendo a **passagem de uma célula para outra**. Desse modo, *Shigella* é protegida da remoção mediada pelo sistema imune e sobrevive à fagocitose pela indução de morte programada da célula (**apoptose**). Esse processo também leva à liberação da IL-1β, resultando na atração dos leucócitos polimorfonucleares pelos tecidos infectados. Esse processo desestabiliza a integridade da parede intestinal e permite que a bactéria alcance as células epiteliais mais profundas.

As cepas de *S. dysenteriae* produzem uma exotoxina, chamada **toxina Shiga**. Semelhante à toxina Shiga produzida pela STEC, essa toxina tem uma subunidade A e cinco subunidades B. As subunidades B se ligam ao glicolipídio (Gb3) da célula hospedeira e facilitam a transferência da subunidade A para dentro da célula. A subunidade A cliva o RNAr 28S na subunidade ribossômica 60S, impedindo a ligação do aminoacil-RNAt e bloqueando a síntese de proteína. A manifestação primária da atividade tóxica é o dano à célula epitelial do intestino; contudo, em um pequeno subconjunto de pacientes, a toxina Shiga pode causar danos às células do endotélio glomerular, levando à falência renal (SHU).

Epidemiologia

Os seres humanos são o único reservatório para *Shigella*. As estimativas indicam que aproximadamente 500 mil casos de infecções por *Shigella* ocorrem a cada ano nos Estados Unidos. Este número tem pouca relevância quando comparado com a estimativa de 90 milhões de casos anuais no mundo inteiro. As cepas de *S. sonnei* são responsáveis por quase 85% das infecções nos Estados Unidos, enquanto *S. flexneri* predomina em países em desenvolvimento. Epidemias de infecção por *S. dysenteriae* ocorrem periodicamente, mais recentemente na África Ocidental e na América Central, e são associadas a índices de 5% a 15% de casos fatais.

A shigelose é sobretudo uma doença pediátrica, representando 60% de todas as infecções em crianças menores de 10 anos. A doença endêmica em adultos é comum em homossexuais do sexo masculino e em contatos domésticos de crianças infectadas. Os surtos epidêmicos da doença ocorrem em creches e instituições de custódia. A shigelose é **transmitida de pessoa** pela via orofecal, em geral por pessoas com mãos contaminadas e menos comumente em água ou alimento. Devido ao fato de que apenas 100 a 200 bactérias podem estabelecer a doença, a shigelose é transmitida rapidamente em comunidades onde as condições sanitárias e os níveis de higiene pessoal são baixos.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 25-3)

A shigelose é caracterizada por **dores abdominais**, **diarreia**, **febre e fezes sanguinolentas**. Os sinais clínicos e os sintomas da doença aparecem entre 1 e 3 dias após ingestão da bactéria. *Shigella* inicialmente coloniza o intestino delgado e começa a se multiplicar dentro das primeiras 12 horas. O primeiro sinal da infecção (diarreia aquosa profusa, sem evidência histológica de invasão da mucosa) é mediado por uma enterotoxina. Contudo, uma característica importante da shigelose é a cólica abdominal baixa e o tenesmo (esforço para defecar), com pus e sangue em abundância nas fezes, como resultado da invasão da mucosa do cólon pela bactéria. Grande quantidade de neutrófilos, eritrócitos e muco é encontrada nas fezes. A infecção geralmente é autolimitada, embora o tratamento com antibiótico seja recomendado para reduzir o risco de transmissão secundária aos membros da família e outros contatos. A colonização assintomática dos micro-organismos no cólon, que ocorre em um pequeno número de pacientes, representa um reservatório persistente para a infecção.



Caso Clínico 25-3 Infecção Causada por Shigella em Creches

Em 2005, três estados relataram surtos de infecções causados por *Shigella* multirresistentes em creches nos Estados Unidos. Um total de 532 infecções foi descrito na área de Kansas City em pacientes com média de idade de 6 anos (Centers for Disease Control and Prevention: *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 55:1068-1071, 2006). O patógeno predominante foi uma cepa multirresistente de *Shigella sonnei*, com 89% dos isolados resistentes a ampicilina e sulfametoxazol-trimetoprim. A shigelose é facilmente transmitida nas creches devido ao elevado risco de contaminação fecal e à baixa dose infectante da doença. Os pais, professores e colegas de turma estavam sob significativo risco de adquirir a doença.

Yersinia

Os patógenos humanos mais conhecidos dentro do gênero Yersinia são **Y. pestis**, **Y. enterocolitica e Y. pseudotuberculosis**. Y. pestis é um patógeno altamente virulento que causa doença sistêmica fatal conhecida como peste; Y. enterocolitica e Y. pseudotuberculosis são basicamente patógenos entéricos pouco comuns e que raras vezes são encontrados em culturas de sangue.

Patogênese e Imunidade

Uma característica comum das espécies patogênicas de *Yersinia* é a capacidade de **resistir** à **morte pelo fagócito**. O sistema secretório tipo III está envolvido nessa propriedade. Dentro das células fagocitárias, as bactérias secretam proteínas que desfosforilam várias proteínas necessárias para a fagocitose (o produto do gene YopH), induzem citotoxicidade por causar desarranjo dos filamentos de actina (o produto do gene YopE), e a apoptose inicial em macrófagos (o produto do gene YopJ/P). O sistema de secreção tipo III também inibe a produção de citocina, que por sua vez diminui a resposta imune inflamatória para a infecção.

Y. pestis tem dois plasmídeos que codificam os genes de virulência: (1) o gene fração 1 (f1), que codifica uma cápsula proteica antifagocitária, e (2) o gene da protease ativadora de plasminogênio (pla), que degrada os componentes do complemento C3b e C5a, impedindo a opsonização e a migração fagocítica, respectivamente. O gene pla também degrada os coágulos de fibrina, permitindo que Y. pestis se dissemine rapidamente. Outros fatores de virulência especificamente associados a Y. pestis são a resistência ao soro e a capacidade do micro-organismo de absorver ferro orgânico como resultado de um mecanismo independente de sideróforo.

Epidemiologia

Todas as infecções por *Yersinia* são **zoonóticas**, com hospedeiros humanos acidentais. Existem duas formas de infecção por *Y. pestis*: a **peste urbana**, para a qual o rato é o reservatório natural; e a **peste silvestre**, que causa infecções em esquilos, coelhos, ratos do campo e gatos domésticos. Porcos, roedores, animais domésticos e coelhos são os reservatórios naturais de *Y. enterocolitica*, enquanto roedores, animais selvagens e aves de caça são os reservatórios animais para *Y. pseudotuberculosis*.

A peste, causada por *Y. pestis*, foi uma das doenças mais devastadoras da história. As epidemias de peste foram registradas no Antigo Testamento. A primeira das três principais pandemias (peste urbana) iniciou-se no Egito em 541 d.C. e se espalhou pelo norte da África, Europa, Ásia Central, Ásia Meridional e Arábia. Quando a pandemia teve um fim, nos meados dos anos 700, uma grande proporção da população desses países estava morta devido à peste. A segunda pandemia, que começou nos anos 1320, resultou (em um período de cinco anos) em mais de 25 milhões de mortes apenas na Europa (30% a 40% da população). A terceira pandemia começou na China em meados de 1860 e se espalhou pela África, Europa e Américas. As epidemias e os casos esporádicos da doença continuam até hoje. Nos últimos anos, menos de 10 casos são relatados por ano nos Estados Unidos, com a doença sendo sobretudo uma peste silvestre e estando presente nos estados ocidentais.

A peste urbana permanece nas populações de ratos e é transmitida entre os ratos ou entre ratos e humanos pelas pulgas infectadas. As pulgas se infectam quando se alimentam de sangue no rato com bacteremia. Após a multiplicação bacteriana no intestino da pulga, os micro-organismos podem ser transferidos para outros roedores ou para os seres humanos. A peste urbana foi eliminada da maioria das comunidades pelo controle efetivo de ratos e pela melhora das condições de higiene. Em contraste, a peste silvestre é difícil ou impossível de ser eliminada, porque o reservatório de mamíferos e vetores de pulgas está disseminado. Assim, os padrões cíclicos de doenças em humanos ocorrem à medida que as oportunidades para contato com populações-reservatório aumentam ou diminuem. As infecções também podem ser adquiridas pela ingestão de animais contaminados ou manuseio de tecidos animais contaminados. Apesar de o microorganismo ser altamente infeccioso, a transmissão pessoa a pessoa não é comum, a menos que o paciente tenha envolvimento pulmonar.

Y. enterocolitica é uma causa comum de enterocolite na Escandinávia, em outros países da Europa e nas regiões frias da América do Norte. Nos Estados Unidos, ocorre aproximadamente uma infecção confirmada por cultura a cada 100 mil pessoas por ano, sendo 90% das infecções associadas ao consumo de carne, leite ou água contaminada. A maioria dos

estudos mostra que as infecções são mais comuns durante os meses frios. A virulência desse micro-organismo está associada a sorogrupos específicos. Os sorogrupos mais comuns encontrados na Europa, África, Japão e Canadá são O3 e O9. Nos Estados Unidos, O8 foi identificado. *Y. pseudotuberculosis* é causa relativamente incomum de doença humana.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 25-4)

As duas manifestações clínicas de infecção por *Y. pestis* são a peste bubônica e a peste pneumônica. A **peste bubônica** é caracterizada por um período de incubação de aproximadamente 7 dias depois de a pessoa ter sido mordida por uma pulga infectada. Os pacientes têm febre alta e um **bubão** doloroso (inflamação e inchaço do nódulo linfático) na virilha ou axila. Bacteremia ocorre rapidamente se os pacientes não são tratados, e pelo menos 75% morrem. O período de incubação (2 a 3 dias) é reduzido em pacientes com **peste pneumônica**. Inicialmente, esses pacientes apresentam febre e mal-estar, e os sinais pulmonares se desenvolvem dentro de 1 dia. Os pacientes são altamente infecciosos; a transmissão pessoa a pessoa ocorre por meio de aerossóis. A taxa de mortalidade em pacientes não tratados com peste pneumônica é acima de 90%.



Caso Clínico 25-4 Peste Humana nos Estados Unidos

Em 2006, um total de 13 casos de peste humana foi descrito nos Estados Unidos — sete no Novo México, três no Colorado, dois na Califórnia e um no Texas (Centers for Disease Control and Prevention: *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 55:940-943, 2006). O que se segue é a descrição de uma apresentação clássica de peste bubônica em um homem de 30 anos. Em 9 de julho, o homem se apresentou ao hospital local com um histórico de febre, náuseas e vômito durante 3 dias, além de linfadenopatia inguinal do lado direito. O paciente foi liberado sem tratamento. Três dias depois, esse paciente voltou ao hospital e foi admitido com diagnóstico de sepse e infiltrados pulmonares bilaterais. Ele foi isolado e tratado com gentamicina, que respondeu bem ao tratamento. As culturas do sangue e dos nódulos linfáticos aumentados foram positivas para *Yersinia pestis*. A bactéria também foi isolada em pulgas coletadas próximo à casa do paciente. Tipicamente, os reservatórios para a peste silvestre são pequenos mamíferos e os vetores são as pulgas. Quando os mamíferos morrem, as pulgas procuram hospedeiros humanos.

Cerca de dois terços de todas as infecções causadas por *Y. enterocolitica* são **enterocolites**, como o nome já sugere. A gastroenterite é tipicamente associada à ingestão de água ou alimentos contaminados. Após um período de incubação entre 1 e 10 dias (média de 4 a 6 dias), o paciente apresenta doença caracterizada por diarreia, febre e dores abdominais que duram de 1 a 2 semanas. Uma forma crônica da doença pode também se desenvolver e persistir durante meses. A doença envolve o íleo terminal e, caso os nódulos linfáticos mesentéricos aumentem de tamanho, pode ficar parecida com uma apendicite aguda. A infecção enterocolítica é mais comum em crianças com pseudoapendicite, representando um problema, particularmente neste grupo etário. *Y. pseudotuberculosis* também pode produzir doença entérica com as mesmas características clínicas. Outras manifestações observadas em adultos são septicemia, artrite, abscessos intra-abdominais, hepatite e osteomielite.

Em 1987, Y. enterocolitica foi descrita pela primeira vez como causa de **bacteremia relacionada com a transfusão sanguínea** e ao choque endotóxico. Como a Yersinia **pode crescer a 4°C**, este micro-organismo pode se multiplicar e atingir concentrações elevadas em produtos contendo sangue e nutricionalmente ricos estocados na geladeira.

Outras Enterobacteriaceae

Klebsiella

Os membros do gênero *Klebsiella* têm uma cápsula proeminente que é responsável pela aparência mucoide das colônias isoladas e pelo aumento da virulência dos micro-organismos *in vivo*. *K. pneumoniae* e a *K. oxytoca* são frequentemente isoladas e podem causar **pneumonia lobar** adquirida na comunidade ou no hospital. A pneumonia causada pelas espécies de *Klebsiella* frequentemente envolve a destruição necrótica dos espaços alveolares, a formação de cavidades e a produção de escarro com sangue. Essa bactéria também causa infecções das feridas e dos tecidos moles e ITU.

O micro-organismo previamente conhecido como *Donovania granulomatis* e posteriormente como *Calymmatobacterium granulomatis* foi reclassificado como *Klebsiella granulomatis*. *K. granulomatis* é o agente etiológico do **granuloma inguinal**, uma doença granulomatosa que afeta a genitália e a área inguinal (Figs. 25-4 e 25-5). Infelizmente, essa doença ficou conhecida como **donovanose**, em referência à origem histórica do nome do gênero. O granuloma inguinal é uma doença rara nos Estados Unidos, mas é endêmica em regiões da Papua-Nova Guiné, Caribe, América do Sul, Índia, África Austral, Vietnã e Austrália. A doença pode ser transmitida depois de repetidas exposições por intercurso sexual ou trauma não sexual na genitália. Após um longo período de incubação, semanas ou meses, aparecem os nódulos subcutâneos na genitália ou na área inguinal. Os nódulos posteriormente arrebentam, revelando uma ou mais lesões granulomatosas indolores que podem se expandir e coalescer, formando úlceras que parecem com as lesões sifilíticas.



FIGURA 25-4 Úlcera em pênis causada por *K. granulomatis*. Pode ser parecida e confundida com o cancro da sífilis. (De Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, et al: *Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS*, ed 4, London, 2010, Saunders.)

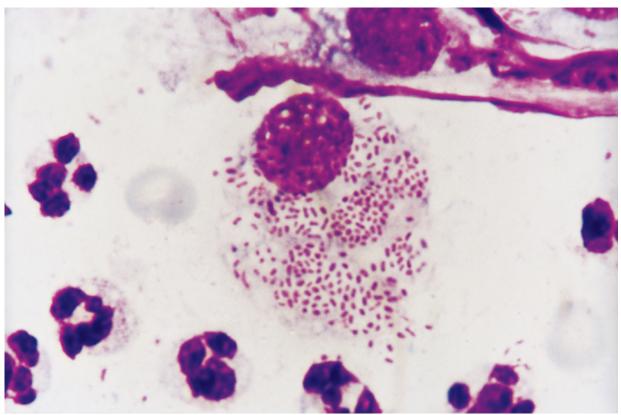


FIGURA 25-5 Microscopia óptica de tecido de granulação de lesão genital de paciente infectado por *K. granulomatis*. Observe a enorme quantidade de bactérias no vacúolo citoplasmático das células mononucleares (coloração de Giemsa modificada). (De Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, et al: *Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS*, ed 4, London, 2010, Saunders.)

As duas outras espécies de *Klebsiella* de importância clínica são *Klebsiella rhinoscleromatis*, que causa uma doença granulomatosa no nariz, e *Klebsiella ozaenae*, que causa rinite atrófica crônica. Ambas as doenças são relativamente

comuns nos Estados Unidos.

Proteus

As infecções do trato urinário causadas por *Proteus mirabilis* são doenças muito comuns do gênero (p.ex., infecção da bexiga ou cistite; infecção renal ou pielonefrite). *P. mirabilis* produz grande quantidade de urease, que quebra a ureia em dióxido de carbono e amônia. Esse processo aumenta o pH da urina, precipitando o magnésio e o cálcio na forma de cristais de estruvita e apatita, respectivamente, resultando na formação de **cálculos renais (rim)**. O aumento da alcalinidade da urina também é tóxico para o uroepitélio.

Enterobacter, Citrobacter, Morganella e Serratia

Infecções primárias causadas por Enterobacter, Citrobacter, Morganella e Serratia são raras em pacientes imunocompetentes. Elas são causas mais comuns de infecções adquiridas no hospital em pacientes recém-nascidos e imunocomprometidos. Por exemplo, Citrobacter koseri foi reconhecido por ter predileção em causar meningite e abscessos cerebrais em recémnascidos.

Outras Propriedades Gerais

Diagnóstico Laboratorial

Cultura

Os membros da família Enterobacteriaceae crescem rapidamente em meio de cultura. Os espécimes de material normalmente estéril, como fluido espinal e tecido coletado de cirurgia, podem ser inoculados em meio de ágar-sangue não seletivo. Os meios seletivos (p.ex., ágar MacConkey ou ágar-eosina azul de metileno [EMB]) são usados para a cultura de espécimes em geral contaminados com outros micro-organismos como escarro e fezes. O uso de ágar diferencial seletivo permite a separação das enterobactérias fermentadoras de lactose das não fermentadoras, fornecendo informação que pode ser usada para orientar terapia empírica com antimicrobianos.

O diagnóstico das cepas de *E. coli* responsáveis pela gastroenterite geralmente é feito em laboratórios de referência. A exceção é a detecção de STEC. Duas abordagens têm sido usadas: cultura e detecção da toxina. Em contraste com a maioria das *E. coli*, muitas cepas de STEC, particularmente O157:H7, não fermentam sorbitol. Então, **ágar MacConkey contendo sorbitol** (S-MAC) é usado para triagem de bactérias Gram-negativas sorbitol-negativas (incolores) em material fecal, que são confirmadas por sorogrupo e testes bioquímicos como *E. coli* O157. A limitação dessa abordagem é que algumas cepas de O157 e muitos outros sorotipos de STEC fermentam sorbitol e poderão ser perdidos. O método preferencial para identificar STEC utiliza imunoensaios comercialmente disponíveis, que detectam a presença da toxina Shiga diretamente nos espécimes fecais ou testes moleculares para os genes da toxina Shiga (Stx1 e Stx2). Esses testes são rápidos e sensíveis.

Meios altamente seletivos ou específicos para determinados micro-organismos são usados para a recuperação de micro-organismos como *Salmonella* e *Shigella* dos espécimes fecais, onde uma abundância da microbiota normal pode ocultar a presença desses patógenos importantes.

O isolamento de *Y. enterocolitica* é difícil, porque esse micro-organismo cresce vagarosamente em temperaturas de incubação tradicionais e prefere temperaturas mais frias, nas quais são metabolicamente mais ativos. Os laboratórios clínicos têm explorado essa propriedade, misturando os espécimes fecais com salina e estocando os mesmos a 4°C por 2 semanas ou mais, antes de subcultivar em meio de ágar. Esse **enriquecimento a frio** permite o crescimento de *Yersinia*, mas inibe ou mata outros micro-organismos presentes na amostra. Ainda que o uso do método de enriquecimento a frio não auxilie no tratamento inicial do paciente com gastroenterite causada por *Yersinia*, isso tem esclarecido o papel desse micro-organismo na doença intestinal crônica.

Identificação Bioquímica

Existem diversas espécies da família Enterobacteriaceae. As referências bibliográficas no final do capítulo oferecem informação adicional sobre a identificação bioquímica dessas bactérias. Os sistemas de testes bioquímicos se tornaram mais sofisticados, e nos dias de hoje os membros mais comuns da família Enterobacteriaceae podem ser identificados de maneira precisa em menos de 24 horas, por um dos muitos sistemas comercialmente disponíveis. O sequenciamento dos genes espécie-específicos (p.ex., gene RNAr 16S) ou a espectrometria de massa para detecção de perfis de proteínas característicos são usados para identificar as espécies menos comuns.

Classificação Sorológica

Os testes sorológicos são muito úteis para determinar a importância clínica de um isolado (p.ex., cepas patogênicas sorotipo-específicas, como *E. coli* O157 ou *Y. enterocolitica* O8) e para classificação de isolados com finalidade epidemiológica. A utilidade desse procedimento é limitada, pois pode ocorrer reação cruzada com enterobactérias antigenicamente relacionadas e com micro-organismos de outras famílias bacterianas.

Tratamento, Prevenção e Controle

A terapia com antibiótico para infecções causadas por enterobactérias deve ser orientada pelos resultados dos testes de suscetibilidade *in vitro* e pela experiência clínica. Enquanto alguns micro-organismos como *E. coli* e *P. mirabilis* são suscetíveis a muitos antibióticos, outros podem ser altamente resistentes. A produção de enzimas que inativam todas as penicilinas e as cefalosporinas (p.ex., β-lactamases de espectro alargado [ESBLs]) é agora generalizada em *E. coli, Klebsiella* e *Proteus*. Além disso, o uso de carbapenemos (p.ex., imipenem, meropenem, ertapenem) já foi um pilar do tratamento; no entanto, a recente recuperação de bactérias produtoras de carbapenemase tem limitado a utilização empírica de carbapenemos e todos os outros antibióticos β-lactâmicos para muitas regiões do mundo. Em geral, a **resistência aos antibióticos** é mais comum em infecções hospitalares que em infecções adquiridas na comunidade. Antibioticoterapia não é recomendada para algumas infecções. Por exemplo, o alívio sintomático, mas não o tratamento com antibióticos, é em geral recomendado para pacientes com gastroenterite por *E. coli* produtora de toxina Shiga e *Salmonella*, porque os antibióticos podem prolongar a permanência fecal destes organismos ou aumentar o risco de complicações secundárias (p.ex., SUH com infecções por STEC em crianças). O tratamento das infecções causadas por *Salmonella* Typhi ou outras infecções sistêmicas de *Salmonella* é indicado; porém, o aumento da resistência aos antibióticos, tais como fluoroquinolona, tem complicado a terapia.

É difícil prevenir as infecções causadas por enterobactérias, pois esses micro-organismos são os principais componentes da população microbiana endógena. Todavia, alguns fatores de risco para as infecções devem ser evitados. Isso inclui o uso irrestrito de antibióticos que possam selecionar bactérias resistentes; a realização de procedimentos que traumatizam as barreiras da mucosa sem a cobertura de antibióticos profiláticos; e o uso de cateteres urinários. Infelizmente, muitos desses fatores estão presentes em pacientes com grande risco de infecção (p.ex., os pacientes imunocomprometidos hospitalizados por longos períodos).

Teoricamente, as infecções exógenas causadas por enterobactérias são fáceis de controlar. Por exemplo, a fonte de infecção de micro-organismos como *Salmonella* é bem definida. No entanto, essa bactéria é ubiquitária em aves domésticas e ovos. A menos que sejam tomados cuidados na preparação e refrigeração de tais alimentos, pouco pode ser feito para controlar essas infecções. Os micro-organismos do gênero *Shigella* são predominantemente transmitidos em crianças jovens, sendo difícil interromper a transmissão orofecal (via mãos contaminadas) responsável pela disseminação da infecção nessa população. Os surtos podem ser evitados e controlados por meio de educação, e pela introdução de procedimentos adequados de controle de infecção (p.ex., lavagem das mãos, eliminação adequada de fraldas e roupas sujas) nos locais onde essas infecções geralmente ocorrem.

A vacina para *Y. pestis* não está mais disponível, embora essa situação provavelmente mude em função da preocupação de que este micro-organismo possa ser usado pelos bioterroristas. Duas vacinas para *Salmonella* Typhi estão disponíveis — uma vacina oral viva, atenuada, e uma com base no polissacarídeo da cápsula Vi. Ambas protegem 40% a 70% dos vacinados. A vacinação é recomendada aos viajantes que se dirigem para áreas endêmicas do mundo (p.ex., África, Ásia, América Latina). A vacina Vi capsular pode ser administrada em uma dose única, mas a vacina viva atenuada tem de ser administrada em quatro doses ao longo de um período de 1 semana. Para recomendações atualizadas, acesse o site do Centers for Disease Control and Prevention (www.cdc.gov).

Referências Bibliográficas

- Abbott S. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae. In: Murray PR, ed. Manual of clinical microbiology, ed 9 Washington, DC: American Society of Microbiology Press; 2007.
- Ackers ML, Puhr ND, Tauxe RV, et al. Laboratory-based surveillance of *Salmonella* serotype Typhi infections in the United States: antimicrobial resistance on the rise. *JAMA*. 2000;283:2668–2673.
- Croxen MA, Law RJ, Scholz R, et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:822–880.
- Darwin KH, Miller VL. Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12:405–428. Farmer JJ, et al. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray PR, ed. *Manual of clinical microbiology*, ed 9Washington, DC: American Society of Microbiology Press; 2007.
- Jackson BR, Iqbal S, Mahon B. Updated recommendations for the use of typhoid vaccine—Advisory Committee on Immunization Practices, United States. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2015;64(11):305–308.
- Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, et al. Burden and etiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*. 2013;382:209–222.
- Lamberti LM, Bourgeois AL, Fischer Walker CL, et al. Estimating diarrheal illness and deaths attributable to *Shigella* and enterotoxigenic *Escherichia coli* among older children, adolescents, and adults in South Asia and Africa. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8:e2705.
- Nataro J, et al. Escherichia, Shigella, and Salmonella. In: Murray PR, ed. *Manual of clinical microbiology*,. ed 9 Washington, DC: American Society of Microbiology Press; 2007.
- Ross AG, Olds GR, Cripps AW, et al. Enteropathogens and chronic illness in returning travelers. N Engl J Med. 2013;368:1817–1825.
- Wanger A. Yersinia. In: Murray PR, ed. *Manual of clinical microbiology*, ed 9 Washington, DC: American Society of Microbiology Press; 2007.
- Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL, et al. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N Engl J Med*. 2000;342:1930–1936.

Zaharik ML, Gruenheid S, Perrin AJ, et al. Delivery of dangerous goods: type III secretion in enteric pathogens. *Int J Med Microbiol*. 2002;291:593–603.

CAPÍTULO 26

Vibrio e Aeromonas

Uma mulher de 67 anos que vive em Louisiana desenvolveu diarreia aquosa maciça 2 dias após ter comido caranguejos. Foi internada em uma unidade de cuidados intensivos do hospital local com hipotensão e bradicardia. Foi ressucitada após um grande volume de fluidos (≈ 22 litros de fluidos em mais de 24 horas) ter sido administrado. Nas culturas de fezes cresceu o *Vibrio cholerae* O1 biótipo El Tor, sorotipo Inaba, e o tratamento com doxiciclina intravenosa foi iniciado. Durante a semana seguinte, a diarreia tinha sido resolvida e a sua recuperação decorreu sem complicações.

- 1. *Vibrio* e *Aeromonas* são importantes bacilos Gram-negativos que causam doença entérica e infecções de feridas. Quais propriedades esses gêneros compartilham com membros da família Enterobacteriaceae e como podem ser diferenciados dessa família?
- 2. De que forma certas cepas de *Vibrio cholerae* causam a cólera, e quais outros micro-organismos possuem fatores de virulência similares?
- 3. Quais doenças podem ser causadas pelo Vibrio vulnificus e quais indivíduos apresentam maior risco para o desenvolvimento de doença grave?
- 4. Quais doenças são associadas a Aeromonas?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Vibrio cholerae

Palavras-gatilho

Sorogrupo O1, cólera, toxina da cólera, marisco, reposição de líquidos

Biologia e Virulência

- Bacilo Gram-negativo curvo
- Fermentador, anaeróbio facultativo, requer sal para o crescimento
- As cepas são subdivididas em mais de 200 sorogrupos (antígenos O de parede celular)
- V. cholerae sorogrupo O1 é ainda subdividido em sorotipos (Inaba, Ogawa, Hikojima) e biotipos (Clássico, El Tor)
- A doença é mediada pela toxina colérica (toxina do tipo A-B) e pilus corregulado com a toxina

Epidemiologia

- O sorotipo O1 é responsável pelas principais pandemias (epidemias mundiais), com mortalidade significante em países em desenvolvimento; o sorotipo O139 pode causar doenças similares.
- Micro-organismos encontrados em ambientes marinhos e de estuário em todo o mundo (incluindo ao longo da costa dos Estados Unidos); associados a frutos do mar que vivem em conchas, ricos em quitina
- Micro-organismos podem se multiplicar livremente em água
- Nível de contaminação bacteriana em águas aumenta durante os meses quentes
- Mais comumente disseminada pelo consumo de água recém-contaminada
- Transmissão direta pessoa a pessoa é rara porque a dose infectante é alta; a dose infectante é alta, pois a maior parte dos micro-organismos é inativada pelos ácidos estomacais

Doenças

• Infecção pode variar de colonização assintomática ou diarreia leve até diarreia grave rapidamente fatal

Diagnóstico

- Exame microscópico das fezes pode ser utilizado em infecções agudas e em situações de epidemias, mas rapidamente se tornam negativas à medida que a doença progride
- Os imunoensaios para a toxina da cólera ou lipopolissacarídeos O1 e O139 podem ser úteis, embora o desempenho analítico dos ensaios seja bastante variável

• Cultura deve ser realizada precocemente durante o curso da doença com espécimes frescos de fezes mantidos em pH neutro a alcalino

Tratamento, Prevenção e Controle

- Reposição de fluido e eletrólitos é crucial
- Antibióticos (p.ex., azitromicina) reduzem a carga bacteriana e a produção de exotoxina, bem como a duração da diarreia
- Melhoria da higiene é fundamental para o controle
- Vacinas combinadas com células íntegras inativadas e a subunidade B da toxina colérica promovem proteção limitada e imunidade coletiva

Vibrio parahaemolyticus

Palavras-gatilho

Hemolisina Kanagawa, marisco, gastroenterite

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos curvos
- Fermentador, anaeróbio facultativo; requer sal para o crescimento
- A produção de hemolisina direta termoestável (hemolisina Kanagawa) é associada a cepas patogênicas

Epidemiologia

- Micro-organismo encontrado em ambientes marinhos e de estuários em todo o mundo
- · Associado ao consumo de frutos do mar crus e contaminados
- Causa mais comum de gastroenterite bacteriana no Japão e Sudeste da Ásia
- Causa mais comum de gastroenterite associada a frutos do mar nos Estados Unidos

Doencas

• A maioria das infecções sintomáticas são diarreias autolimitadas.

Diagnóstico

• Cultura deve ser realizada nas mesmas condições empregadas para o cultivo de V. cholerae

Tratamento, Prevenção e Controle

- Doença autolimitada, embora o uso de antibióticos possa diminuir o tempo dos sintomas e a perda de fluido
- Doença prevenida pela cocção adequada dos frutos do mar
- Não existe vacina disponível

Vibrio vulnificus

Palavras-gatilho

Septicemia, infecções de feridas, doença hepática, ameaçadora da vida

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos curvos
- Fermentador, anaeróbio facultativo; requer sal para o crescimento
- Virulência associada à produção de cápsula polissacarídica e enzimas hidrolíticas

Epidemiologia

• Infecção associada à exposição de feridas à água salgada contaminada ou à ingestão de frutos do mar preparados de maneira inadequada

Doenças

 Alta mortalidade associada à septicemia primária e a infecções de ferida, sobretudo em pacientes com doença de base hepática

Diagnóstico

• Cultura de sangue e das feridas

Tratamento, Prevenção e Controle

- Doença com alta mortalidade associada, deve ser imediatamente tratada com antibióticos
- Minociclina ou doxiciclina combinadas com ceftriaxona ou cefotaxima é o tratamento de escolha
- Não existe vacina disponível

Os gêneros Vibrio e Aeromonas representam o segundo maior grupo de bacilos Gram-negativos fermentadores, anaeróbios facultativos. Esses micro-organismos foram classificados junto com a família Vibrionaceae e foram separados da família Enterobacteriaceae com base na reação positiva para oxidase e na presença de flagelo polar. Esses micro-organismos foram também classificados juntos, por serem primariamente encontrados na água e por serem capazes de causar doença

gastrointestinal. Entretanto, o sequenciamento de DNA estabeleceu que esses dois gêneros têm relação distante e pertencem a famílias distintas: *Vibrio* e *Aeromonas* são, nos dias de hoje, classificados nas famílias Vibrionaceae e Aeromonadaceae, respectivamente (Tabela 26-1). Apesar dessa reorganização taxonômica, a apresentação dessas duas bactérias juntas é apropriada, pois a epidemiologia e a distribuição de doenças associadas são semelhantes.



Tabela 26-1

Espécies Importantes de Vibrio e Aeromonas

Micro-organismo	Derivação Histórica	
Vibrio	vibrio, que se move rápida ou vibra (movimento rápido causado por flagelos polares)	
V. cholerae	cholerae, cólera ou uma doença intestinal	
V. parahaemolyticus	para, pelo lado de; haema, sangue; lyticus, dissolvente (dissolve sangue; cepas Kanagawa-positivas para toxina são hemolíticas	
V. vulnificus	vulnificus, que causa feridas (associado a infecções de ferida proeminentes)	
Aeromonas	aero, gás ou ar; monas, unidade ou mônada (bactéria produtora de gás)	
A. caviae	cavia, porquinho-da-índia (isolado pela primeira vez em porquinho-da-índia)	
A. hydrophila	hydro, água; philia, afeição (afinidade por água)	
A. veronii	veron, nomeada em homenagem ao bacteriologista Veron	

Vibrio

O gênero Vibrio sofreu várias modificações nos últimos anos, com um número de espécies incomuns descrito ou reclassificado. Atualmente, o gênero é composto por 119 espécies de **bacilos curvos**. Três espécies são, em particular, importantes patógenos humanos (Tabela 26-2): Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus e Vibrio vulnificus.



Tabela 26-2

Espécies de Vibrio mais Comumente Associadas a Doenças Humanas

Espécies Fonte da Infecção		Doença Clínica
V. cholerae	Água, alimento	Gastroenterite, bacteremia
V. parahaemolyticus	Moluscos com concha, água do mar	Gastroenterite, infecções de feridas, bacteremia
V. vulnificus	Moluscos com concha, água do mar	Bacteremia, infecções de feridas

Fisiologia e Estrutura

As espécies do gênero *Vibrio* podem crescer em uma variedade de meios de cultivo simples, dentro de uma ampla faixa de temperatura (de 14°C a 40°C). Todas as espécies de *Vibrio* necessitam de cloreto de sódio (NaCl) para o crescimento. O *V. cholerae* pode crescer na maioria dos meios sem adição de sal, mas a maioria das outras espécies hemofílicas ("que têm afinidade por sal") requerem a suplementação com NaCl. Os víbrios toleram uma ampla gama de pH (p.ex., pH de 6,5 a 9,0) mas são sensíveis aos ácidos do estômago. De um modo geral, exposição a um grande inóculo de organismos é necessária para ocorrer doença, mas se a produção de ácido gástrico está reduzida ou neutralizada, os pacientes são mais suscetíveis a infecções por *Vibrio*.

A maioria dos víbrios possui **flagelo polar** (importante para motilidade) e também várias fímbrias (*pili*), que são importantes para virulência (p.ex., *pilus* corregulado com a toxina nas cepas epidêmicas de *V. cholera*). A estrutura da parede celular dos víbrios é também importante. Todas as cepas possuem **lipopolissacarídeos** constituídos pelo lipídio A (endotoxina), núcleo polissacarídeo e uma cadeia lateral de polissacarídeo O. O polissacarídeo O é utilizado para subdividir as espécies de *Vibrio* em **sorogrupos**: existem mais de 200 sorogrupos de *V. cholerae* e também diversos sorogrupos de *V. vulnificus* e *V. parahaemolyticus*. O interesse nesse sistema de classificação é mais que acadêmico — *V. cholerae* O1 e O139 produzem a toxina colérica e são associados a epidemias de cólera. Outras cepas de *V. cholerae* geralmente não produzem toxina colérica e não causam doença epidêmica. O sorogrupo O1 de *V. cholerae* é ainda subdividido em sorotipos (**Inaba, Ogawa** e **Hikojima**) e biotipos (**Clássico** e **El Tor**). As cepas podem alterar entre o sorotipo Inaba e o sorotipo Ogawa, sendo o sorotipo Hikojima um estado de transição em que ambos os antígenos, Inaba e Ogawa, são expressos. Foram documentadas sete pandemias mundiais de infecções por *V. cholerae* desde 1817. O biotipo Clássico de *V. cholerae* foi

responsável pela sexta pandemia mundial de cólera, enquanto as cepas responsáveis pela pandemia mais recente pertencem ao biotipo El Tor.

V. vulnificus e *V. cholerae* não O1 produzem **cápsulas de polissacarídeo** ácidas que são importantes em infecções disseminadas. *V. cholerae* O1 não produz cápsula, limitando as infecções causadas por esse sorogrupo à região intestinal.

V. cholerae e V. parahaemolyticus possuem dois cromossomos circulares, cada um deles com genes essenciais para essas bactérias. Plasmídeos, incluindo aqueles que codificam resistência aos antimicrobianos, também são frequentes em espécies de Vibrio.

Patogênese e Imunidade (Tabela 26-3)

A virulência do *V. cholerae* envolveu a aquisição, em primeiro lugar, de uma sequência de genes incluindo *pilus*corregulado com toxina (TCP), que recebe o nome de ilha de patogenicidade do víbrio (VPI-1), seguida da infecção com o bacteriófago CTXΦ, que codifica os genes para as duas subunidades da toxina da cólera (*ctxA* e *ctxB*). Os TCP servem como receptores da superfície celular para o bacteriófago, permitindo-lhe mover-se para dentro da célula bacteriana, onde se torna integrado no genoma do *V. cholerae*. O *locus* cromossômico do bacteriófago lisogênico também contém outros fatores de virulência, incluindo o gene *ace* que codifica a enterotoxina colérica acessória; o gene *zot*, para a toxina da zônula *occludens*; e o gene *cep*, para proteínas quimiotáticas. Esses genes são encontrados em múltiplas cópias nas cepas de *V. cholerae* O1 e O139, e a expressão deles é coordenada por genes regulatórios.



Tabela 26-3

Fatores de Virulência de Espécies de Vibrio

Espécie	Fator de Virulência	Efeito Biológico
V. cholerae	Toxina colérica	Hipersecreção de eletrólitos e água
	Pilus corregulado com a toxina	O local de ligação da superfície do receptor para o bacteriófago CTXΦ; medeia a adesão bacteriana às células da mucosa intestinal
	Proteína quimiotática	Fator de aderência
	Enterotoxina colérica acessória	Aumenta a secreção de fluido intestinal
	Toxina da zônula occludens	Aumenta a permeabilidade intestinal
	Neuraminidase	Modifica a superfície da célula para aumentar os locais de ligação GM_1 para a toxina colérica
V. parahaemolyticus	Hemolisina Kanagawa	Enterotoxina que induz secreção de íons cloreto (diarreia aquosa)
V. vulnificus	Cápsula polissacarídica	Antifagocítica
	Citolisinas, proteases, colagenase	Mediadores de destruição tecidual

A toxina colérica é formada por um **complexo do tipo A-B**, que é estrutural e funcionalmente similar à enterotoxina termolábil de *Escherichia coli*. Um anel composto por cinco subunidades B idênticas da toxina colérica se liga aos receptores de gangliosídeos GM₁ nas células do epitélio intestinal. A porção ativa da subunidade A é internalizada e interage com as proteínas G que controlam a adenilato ciclase, levando à conversão catabólica do trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). Essa conversão resulta na hipersecreção de água e eletrólitos. Pacientes com infecção grave podem perder até um litro de fluido por hora durante o pico da doença. Essa perda enorme de fluido normalmente auxilia na eliminação do micro-organismo do trato gastrointestinal. No entanto, *V. cholerae* é capaz de **aderir à camada de células mucosas** por meio (1) da **TCP**, codificada pelo complexo de genes *tcp*, e (2) das **proteínas quimiotáticas**, codificadas pelos *cep*. Cepas não aderentes não apresentam capacidade de causar infecção.

Na ausência da toxina colérica, *V. cholerae* O1 pode ainda causar diarreia significativa por meio da ação da **enterotoxina colérica acessória** e **toxina da zônula** *occludens*. A enterotoxina aumenta a secreção de fluidos e a toxina da zônula *occludens* causa o afrouxamento das junções de oclusão (zônula *occludens*) da mucosa do intestino delgado, levando ao aumento da permeabilidade intestinal.

Diferentemente de outros sorotipos não O1, *V. cholerae* O139 possui o mesmo complexo de virulência presente nas cepas O1. Portanto, a capacidade das cepas O139 de aderir à mucosa intestinal e de produzir toxina colérica permite que essas cepas causem uma diarreia aquosa similar à cólera.

Os mecanismos pelos quais outras espécies de *Vibrio* causam doença não são claramente compreendidos, embora uma variedade de fatores de virulência potenciais tenha sido identificada. A maioria das cepas virulentas de *V. parahaemolyticus* produz adesinas, uma hemolisina direta termoestável (TDH; também chamada de **hemolisina Kanagawa**) e os sistemas de secreção do tipo III que medeiam a sobrevivência das bactérias e a expressão de fatores de

virulência. A TDH é uma enterotoxina que induz a secreção do íon cloreto pelas células epiteliais, por meio do aumento do cálcio intracelular. Um método importante para classificação de cepas virulentas de *V. parahaemolyticus* é a detecção da TDH, que produz colônias β-hemolíticas no meio de ágar com sangue humano, mas não em ágar com sangue de carneiro. Essas cepas virulentas são denominadas **Kanagawa-positivas**. Na presença de ácidos gástricos, *V. vulnificus* degrada lisina rapidamente, produzindo subprodutos alcalinos. Além disso, esse micro-organismo é capaz de evadir a resposta imunológica do hospedeiro por induzir a apoptose de macrófagos e inibir a fagocitose pela expressão de uma cápsula de polissacarídeo. *V. vulnificus* também possui proteínas de superfície que fazem a mediação da ligação do micro-organismo com as células do hospedeiro e secretam toxinas citolíticas que causam necrose tecidual.

Epidemiologia

As espécies do gênero *Vibrio*, incluindo *V. cholerae*, crescem naturalmente em **ambientes marinhos e de estuários** em todo o mundo. Todas as espécies de *Vibrio* são capazes de sobreviver e se replicar em água contaminada com salinidade aumentada. Os víbrios patogênicos podem também crescer em águas onde se encontram **moluscos** com conchas (p.ex., ostras, mariscos e mexilhões) — por isso a associação entre infecções causadas por espécies de *Vibrio* com o consumo desses frutos do mar. O estado de portador assintomático pode também servir como um importante reservatório para esses microorganismos em áreas onde a doença causada por *V. cholerae* é endêmica.

Desde 1817, sete grandes pandemias de cólera ocorreram, resultando em milhares de mortes e grandes mudanças socioeconômicas. Doenças esporádicas e epidêmicas ocorreram antes desse período, mas a disseminação da doença no mundo só se tornou possível com as viagens intercontinentais, resultantes de guerras e do aumento do comércio.

A sétima pandemia, causada pelo *V. cholerae* O1 biotipo El Tor, começou na Ásia em 1961 e disseminou-se para a África, Europa e Oceania nos anos 1970 e 1980. Em 1991, a cepa pandêmica espalhou-se para o Peru e subsequentemente causou doença em vários países das Américas do Sul e Central, bem como nos Estados Unidos e Canadá. Uma segunda cepa epidêmica surgiu em 1992 na Índia e rapidamente se difundiu pela Ásia, mas agora permanece sobretudo restrita a esta área. Essa cepa, *V. cholerae* O139 Bengal, produz a toxina colérica e compartilha outras características com *V. cholerae* O1. Essa é a primeira cepa não O1 capaz de causar doença epidêmica e produzir a doença em adultos previamente infectados com a cepa O1 (mostrando que nenhuma imunidade protetora foi desenvolvida).

A cada ano, é estimada a ocorrência de três a cinco milhões de casos de cólera e 120.000 mortes em todo mundo. As epidemias mais recentes ocorreram em 2004, após uma enchente em Bangladesh; em 2008 e 2009, no Zimbábue; e, em 2010, no Haiti, após um terremoto devastador. A cólera é transmitida pela água e alimentos contaminados e não por contato direto pessoa a pessoa, já que um alto inóculo bacteriano (p.ex., > 108 micro-organismos) é necessário para o estabelecimento da infecção em uma pessoa com acidez gástrica normal. Em uma pessoa com acloridria ou hipocloridria, a dose infectante pode ser mais baixa, incluindo inóculos de 10^3 a 10^5 micro-organismos. Cepas disseminadas a partir de pacientes são 10 a 100 vezes mais infecciosas que as cepas ambientais, embora esta hiperinfectividade seja perdida no prazo de 24 horas de disseminação. Portanto, a cólera geralmente ocorre em comunidades com condições sanitárias inadequadas. De fato, as pandemias de cólera resultaram no reconhecimento do papel da água contaminada na transmissão da doença e na necessidade de melhorias nos sistemas de saneamento comunitários para que a doença pudesse ser controlada. Dessa maneira, não é surpreendente observar o acontecimento de surtos de cólera após desastres naturais, como o terremoto no Haiti, que comprometem o controle de resíduos sanitários. O sequenciamento do DNA de genomas de cepas epidêmicas ajudou-nos a entender como as epidemias se desenvolvem e são mantidas. As cepas de V. cholerae em águas contaminadas são tipicamente policlonais. Em contraste, as cepas da epidemia são monoclonais, capazes de iniciar a doença por propriedades de virulência específicas. Assim, a exposição ao V. cholerae, cuja concentração na água pode oscilar durante as estações do ano ou após um desastre natural, não é suficiente para manter uma epidemia. A exposição deve ser ao clone específico responsável pela doença.

As infecções causadas por *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* e outros víbrios patogênicos resultam do consumo de frutos do mar malcozidos, em particular ostras, ou exposição à água do mar contaminada. *V. parahaemolyticus* é o principal agente causador de gastroenterite bacteriana no Japão e Sudeste da Ásia, e é a espécie mais comum de *Vibrio* responsável por gastroenterites nos Estados Unidos. *V. vulnificus* não é isolado frequentemente, mas é responsável por infecções de feridas graves com alta incidência de casos fatais. *V. vulnificus* é a causa mais comum de septicemia por espécies de *Vibrio*. A gastroenterite causada por víbrios geralmente ocorre ao longo do ano, já que ostras contaminadas com grande quantidade de micro-organismos são comuns o ano inteiro. Em contraste, a septicemia e as infecções de feridas causadas por espécies de *Vibrio* ocorrem nos meses quentes, quando os micro-organismos conseguem se multiplicar em grande número na água do mar.

Doenças Clínicas (Quadro 26-1)

Vibrio cholerae (Caso Clínico 26-1)

A maioria dos indivíduos expostos a cepas toxigênicas de *V. cholerae* O1 apresenta infecções assintomáticas ou diarreia autolimitada. Entretanto, alguns indivíduos desenvolvem uma diarreia grave rapidamente fatal. As manifestações clínicas da cólera iniciam-se em média de 2 a 3 dias após a ingestão da bactéria (pode ser < 12 horas), com início abrupto de diarreia aquosa e vômito. A febre é rara e pode ser indicativa de uma infecção secundária. À medida que ocorre perda de fluido, os espécimes fecais se tornam incolores e inodoros, livre de proteínas e com muco (fezes de "água de arroz"). A grande perda

de fluido e eletrólitos pode levar a desidratação, câimbras musculares dolorosas, acidose metabólica (perda de bicarbonato), hipocalemia (perda de potássio) e choque hipovolêmico, o que resulta em arritmia cardíaca e insuficiência renal. A taxa de mortalidade em pacientes não tratados é tão elevada quanto 70%, mas menos de 1% em pacientes que são tratados imediatamente com reposição de fluidos e eletrólitos. A doença causada pelo *V. cholerae* **O139** pode ser tão grave quanto a doença causada pelo *V. cholerae* **O1**. Outros sorotipos de *V. cholerae* (em geral chamados de *V. cholerae* **não O1**) não produzem toxina colérica e na maioria das vezes são responsáveis por diarreia aquosa leve. Essas cepas podem causar também infecções extraintestinais como septicemia, particularmente em pacientes com doenças hepáticas ou hematológicas.



Quadro 26-1 Resumos Clínicos dos Vibrio

Vibrio cholerae

Cólera: começa com um início abrupto de diarreia aquosa e vômito que pode progredir para desidratação grave, acidose metabólica, hipocalemia e choque hipovolêmico

Gastroenterite: formas mais brandas de doença diarreica podem ocorrer com cepas não toxigênicas de *V. cholerae* O1 e outros sorotipos não O1

Vibrio parahaemolyticus

Gastroenterite: geralmente autolimitada, com um início explosivo de diarreia aquosa e náuseas, vômito, cólica abdominal, cefaleia e febre baixa

Infecção de ferida: associada à exposição à água contaminada

Vibrio vulnificus

Infecção de ferida: infecções graves e potencialmente fatais caracterizadas por eritema, dor, formação de bolha, necrose tecidual e septicemia



Caso Clínico 26-1 Cólera Causada pelo Vibrio cholerae

Embora a cólera seja amplamente disseminada na África, Ásia e América Latina, a cepa de *V. cholerae* O1 toxigênica é também endêmica ao longo da Costa do Golfo, nos Estados Unidos. A maioria das doenças descritas nos Estados Unidos ocorre em pessoas que viajam para países com um surto ativo de cólera na comunidade; entretanto, após os furacões Katrina e Rita, as condições de saneamento nas comunidades localizadas na costa ao longo do Golfo aumentaram o risco de cólera, como ilustrado pelo seguinte relato (Centers for Disease Control and Prevention, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 55:31–32, 2006). Três semanas após danos extensivos causados pelo furacão Rita à comunidade do sudoeste do estado da Louisiana, um homem de 43 anos e sua mulher de 46 desenvolveram diarreia. Enquanto a mulher apresentou apenas uma diarreia leve, o homem foi hospitalizado no dia seguinte com febre baixa, dores musculares, náuseas, vômito, cólicas abdominais, diarreia grave e desidratação. O paciente rapidamente progrediu com perda completa da função renal e insuficiência respiratória e cardíaca. Após tratamento com antibióticos e terapia agressiva de reidratação, o paciente recuperou o seu estado prévio de saúde. *V. cholerae* O1 toxigênico — sorotipo Inaba, biotipo El Tor — foi isolado dos espécimes de fezes dos dois pacientes. Os isolados foram idênticos entre si e idênticos a outros isolados associados à Costa do Golfo, quando caracterizados por eletroforese em campo elétrico pulsado. Este caso ilustra a rápida progressão da cólera resultando em diarreia grave e desidratação, na necessidade de terapia de reidratação agressiva e na associação com a deterioração da infraestrutura de saúde pública após um desastre natural.

Vibrio parahaemolyticus (Caso Clínico 26-2)

A gravidade da gastroenterite causada por *V. parahaemolyticus* pode variar de uma diarreia autolimitada até uma doença moderada, semelhante à cólera. Em geral, a doença se desenvolve após um período de incubação que varia de 5 a 72 horas (média, 24 horas), com **diarreia aquosa** aguda. Nenhuma evidência macroscópica de sangue ou muco é encontrada em espécimes fecais, exceto em casos graves. Sintomas incluindo dor de cabeça, cólicas abdominais, náuseas, vômito e febre baixa podem persistir por 72 horas ou mais. O paciente normalmente apresenta uma eventual recuperação. Infecções de ferida causadas por esse micro-organismo podem ocorrer em pessoas expostas à água do mar contaminada.



Caso Clínico 26-2 Doença Causada pelo Vibrio parahaemolyticus

Um dos maiores surtos descritos de *V. parahaemolyticus* nos Estados Unidos foi documentado em 2005 (McLaughlin *et al., N Engl J Med* 353:1463–1470, 2005). Em 19 de julho, o Serviço Epidemiológico do Estado de Nevada descreveu o isolamento de *V. parahaemolyticus* em uma pessoa que desenvolveu gastroenterite 1 dia após comer ostras cruas servidas em um cruzeiro no Alasca. As investigações epidemiológicas identificaram 62 indivíduos (taxa de ataque de 29%) que desenvolveram gastroenterite após consumo de pequenas quantidades de ostras cruas. Além da diarreia aquosa, os indivíduos doentes relataram dores abdominais (82%), calafrios (44%), mialgias (36%), dores de cabeça (32%) e vômito

(29%), com sintomas que duraram em média 5 dias. Nenhum paciente necessitou de internação hospitalar. Todas as ostras foram obtidas de um único produtor, onde a temperatura da água em julho e agosto foi de 16,6°C e 17,4°C. Temperaturas da água acima de 15°C são consideradas favoráveis para o crescimento de *V. parahaemolyticus*. Desde 1997, a temperatura média da água nos criadouros de ostras tem aumentado 0,21°C por ano e agora permanece consistentemente acima de 15°C. Dessa maneira, esse aquecimento sazonal ampliou a gama de doenças gastrointestinais associadas ao *V. parahaemolyticus*. Este surto ilustra o papel dos moluscos contaminados na doença do *V. parahaemolyticus* e os sintomas clínicos tipicamente observados.

Vibrio vulnificus (Caso Clínico 26-3)

V. vulnificus é uma espécie particularmente virulenta de Vibrio, responsável por mais de 90% das mortes relacionadas com Vibrio nos Estados Unidos. A apresentação mais comum é a **septicemia primária**, após consumo de ostras cruas contaminadas, ou **infecções de feridas** rapidamente progressivas, após exposição à água do mar contaminada. Os pacientes com septicemia primária apresentam rápido quadro de febre e calafrios, vômito, diarreia e dor abdominal. Lesões secundárias da pele com necrose de tecido também estão com frequência presentes. A mortalidade de pacientes com septicemia causada por V. vulnificus pode ser de até 50%. As infecções em feridas são caracterizadas por inchaço inicial, eritema e dor no local da ferida, acompanhadas do aparecimento de vesículas ou bolhas e possível necrose de tecido, juntamente com os sinais sistêmicos de febre e calafrios. A mortalidade associada às infecções em feridas varia de 20% a 30%. As infecções causadas por V. vulnificus são mais graves em pacientes com doença hepática, hematopoética, insuficiência renal crônica e nos que receberam fármacos imunossupressores.



Caso Clínico 26-3 Septicemia Causada pelo Vibrio vulnificus

Septicemia e infecções de feridas são complicações bem conhecidas que ocorrem após exposição ao *V. vulnificus*. O presente caso clínico publicado na revista científica *Morbidity and Mortality Weekly Report* (*MMWR* 45:621-624, 1996) ilustra as características típicas dessas doenças. Um homem de 38 anos com um histórico de alcoolismo e diabetes dependente de insulina desenvolveu febre, calafrios, náuseas e mialgia 3 dias após comer ostras cruas. Ele foi admitido no hospital local no dia seguinte com febre alta e duas lesões necróticas na perna esquerda. O diagnóstico clínico de sepse foi feito e o paciente foi transferido para a unidade de terapia intensiva. Terapia antimicrobiana foi iniciada, e, no segundo dia de hospitalização, *V. vulnificus* foi isolado de espécime sanguíneo coletado no momento da admissão. Apesar do tratamento médico agressivo, o paciente continuou a apresentar piora e morreu no terceiro dia de hospitalização. Esse caso ilustra a progressão rápida e fatal da doença causada por *V. vulnificus* e o fator de risco da ingestão de frutos do mar crus, particularmente em indivíduos com doença hepática. Uma progressão semelhante da doença poderia ter sido observada se esse indivíduo tivesse sido exposto a *V. vulnificus* através de uma ferida superficial contaminada.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

As espécies de *Vibrio* são pequenos bacilos Gram-negativos curvos (0,5 a 1,5 a 3 µm). Grandes números de microorganismos estão tipicamente presentes nas fezes de pacientes no início da cólera, de modo que o **exame microscópico direto das fezes** pode fornecer um diagnóstico rápido e presuntivo em situações de surtos de cólera; no entanto, à medida que a doença progride, os organismos são diluídos com a perda de fluido massiva, e a microscopia é menos útil. O exame microscópico corado por Gram de espécimes coletados de feridas pode também ser útil em situações em que é sugestiva a infecção por *V. vulnificus* (p.ex., exposição de indivíduos suscetíveis à água ou a frutos do mar).

Imunoensaios

Os imunoensaios para a detecção da toxina da cólera ou dos lipopolissacarídeos O1 e O139 são utilizados para o diagnóstico de cólera em áreas endêmicas. Esses testes têm sensibilidade (tão alta como 97%) e especificidade variáveis e têm valor decrescente à medida que a doença progride, porque menos organismos estão presentes em espécimes clínicas.

Cultura

As espécies de *Vibrio* sobrevivem com dificuldade em um ambiente ácido ou seco. Os espécimes devem ser coletados logo no início da doença e inoculados imediatamente em meios de cultura. Se a preparação da cultura demorar, o espécime deve ser inoculado no meio de transporte Cary-Blair e refrigerado. Os víbrios apresentam baixo índice de sobrevivência em salina glicerinada tamponada, que é o meio de transporte utilizado para a maioria dos patógenos entéricos.

Os víbrios crescem na maioria dos meios utilizados pelos laboratórios clínicos para cultura de fezes e feridas, incluindo ágar-sangue e ágar MacConkey. Ágar seletivo especial para víbrios (p.ex., ágar tiossulfato-citrato-sacarose-sais biliares [TCBS]), bem como um meio de enriquecimento (meio de peptona alcalina, pH 8,6), pode ser utilizado para recuperar víbrios de espécimes com uma mistura de micro-organismos (p.ex., fezes). Os isolados são identificados com testes

bioquímicos seletivos e são sorotipados utilizando-se antissoro polivalente. Em testes realizados para identificar víbrios halofílicos, os meios para os testes bioquímicos devem ser suplementados com 1% de NaCl.

Tratamento, Prevenção e Controle

Pacientes com cólera devem ser tratados de maneira rápida com **reposição de fluidos e eletrólitos** antes que ocorra grande perda de fluidos que leva ao choque hipovolêmico. A terapia antimicrobiana, embora tenha um valor secundário, pode reduzir a produção de toxinas e os sintomas clínicos, bem como reduzir a transmissão da doença por eliminar mais rapidamente os micro-organismos. Uma dose única de **azitromicina** é hoje em dia a terapia de escolha para crianças e adultos, já que a resistência aos macrolídeos é relativamente incomum. Uma dose única de doxiciclina ou ciprofloxacina pode ser utilizada como terapia alternativa em adultos, não gestantes, se demonstrada a atividade *in vitro* desses antimicrobianos. Todavia, resistência a tetraciclina e fluoroquinolonas é relativamente comum.

A gastroenterite causada por *V. parahaemolyticus* quase sempre é uma doença autolimitada, embora a terapia antimicrobiana em combinação com a reposição de fluidos e eletrólitos possa ser utilizada em pacientes com infecções graves. As infecções de feridas e septicemia causadas por *V. vulnificus* devem ser imediatamente tratadas com antibióticos. A combinação de minociclina ou doxiciclina com ceftriaxona ou cefotaxima parece ser o tratamento mais eficaz.

As pessoas infectadas por *V. cholerae* podem eliminar a bactéria nos primeiros dias de doença aguda, o que representa uma importante fonte de novas infecções. Embora não existam carreadores de longa duração, os víbrios são formas livres em reservas marinhas e estuários. Apenas a melhora do saneamento pode levar ao controle **efetivo** da doença. Isso envolve tratamento adequado de esgotos, o uso de sistemas de purificação para eliminar contaminações nos suprimentos de água e a implementação de ações apropriadas para evitar a contaminação dos alimentos.

Embora não exista vacina oral para cólera disponível nos Estados Unidos, uma variedade de **vacinas** orais com patógeno inativo está disponível em outros países. No entanto, nenhuma das vacinas promove proteção por um longo período. O uso de uma vacina que contém células totais inativadas de *V. cholerae* O1 e mais a toxina colérica B recombinante, ou uma vacina bivalente inativada contendo células íntegras de *V. cholerae* O1 e O139, é recomendado para proteção de curto prazo de viajantes em situações de alto risco (p.ex., exposição à água não tratada ou cuidado de pacientes infectados) e em regiões endêmicas do mundo. A profilaxia feita com antibióticos pelos contatos e membros da mesma família de pacientes com cólera pode limitar a transmissão, mas é geralmente ineficaz em comunidades onde ocorre a doença.

Aeromonas

Aeromonas é um bacilo Gram-negativo fermentador, anaeróbio facultativo, que se assemelha morfologicamente aos membros da família Enterobacteriaceae. Da mesma forma que ocorreu com o gênero Vibrio, houve também uma reorganização extensiva da taxonomia dessas bactérias. Mais de 30 espécies de Aeromonas são descritas, muitas dessas associadas a doenças em seres humanos. Os patógenos mais importantes são: Aeromonas hydrophila, Aeromonas caviae e Aeromonas veronii biovar. sobria. Esses micro-organismos são onipresentes em água doce e água salobra.

As espécies de *Aeromonas* causam três formas de doença: (1) **doença diarreica** em pessoas saudáveis, (2) **infecções de feridas** e (3) **doenças sistêmicas oportunistas** em pacientes imunocomprometidos (particularmente aqueles com doença hepatobiliar ou malignidade subjacente). A doença intestinal pode se apresentar como uma diarreia aquosa aguda, disenteria caracterizada por intensas dores abdominais e presença de sangue e leucócitos nas fezes, ou como uma doença crônica com diarreia intermitente. Carreadores gastrointestinais vêm sendo observados em indivíduos com grande número de micro-organismos, nos meses quentes. Dessa maneira, o significado clínico do isolamento de *Aeromonas* em amostras entéricas deve ser determinado pela apresentação clínica do paciente. A gastroenterite em geral ocorre após ingestão de água ou alimento contaminado (p.ex., produtos frescos, carnes, produtos lácteos), enquanto as infecções de feridas geralmente resultam de uma lesão traumática associada à exposição à água contaminada. Uma forma incomum de infecção em ferida causada por *Aeromonas* está associada ao uso medicinal de sanguessugas, cujo intestino é colonizado por *A. veronii* biovar.sobria (Caso Clínico 26-4).



Caso Clínico 26-4 Infecções de Feridas por Aeromonas

As sanguessugas medicinais (*Hiruda medicinalis*) às vezes são utilizadas na cirurgia plástica para estimular a corrente sanguínea em enxertos cirúrgicos de pele. As sanguessugas removem o sangue estagnado e estimulam o vazamento de sangue para o enxerto na pele por mais de 48 horas após sua remoção. Este sangramento é mediado por um inibidor de trombina, a hirudina (origem do nome do gênero), que está presente na saliva das sanguessugas. *Aeromonas* está presente no intestino da sanguessuga e produz enzimas proteolíticas usadas pela sanguessuga para digerir o sangue. Uma complicação causada pelo uso de sanguessugas é a infecção em feridas causadas por *Aeromonas*, como ilustrado no caso descrito por Snower et al. (*J Clin Microbiol* 27:1421-1422, 1989). Uma mulher de 62 anos teve epiteliomas de células basais que foram removidos de sua fronte, com o local da cirurgia coberto por enxertos de pele. As sanguessugas medicinais foram utilizadas para melhorar o edema no local do enxerto. Elas foram removidas de um tanque e aplicadas sobre a ferida por 1 hora em quatro ocasiões diferentes. Onze dias após a cirurgia inicial, o enxerto apareceu infectado e foi

removido. As culturas do enxerto, das sanguessugas e da água do tanque foram positivas para *Aeromonas*. A paciente foi tratada com antibióticos parenterais, e um novo enxerto, sem o uso de sanguessugas, foi realizado com sucesso.

Embora numerosos fatores de virulência potenciais (endotoxina, hemolisinas, enterotoxinas termoestáveis e termolábeis) tenham sido identificados em *Aeromonas*, o papel deles na doença ainda não é conhecido.

A doença diarreica aguda é autolimitada e apenas o cuidado de apoio é indicado nos pacientes afetados. A terapia antimicrobiana é necessária em pacientes com doença diarreica crônica, infecções de feridas ou doença sistêmica. As espécies de *Aeromonas* são resistentes às penicilinas, à maioria das cefalosporinas e à eritromicina. As fluoroquinolonas (p.ex., levofloxacina, ciprofloxacina) são quase uniformemente ativas contra cepas de *Aeromonas* isoladas nos Estados Unidos e na Europa; entretanto, resistência foi descrita em cepas isoladas na Ásia. Assim, eficácia em longo prazo das fluoroquinolonas ainda deve ser investigada. Uma fluoroquinolona pode ser utilizada inicialmente para o tratamento empírico, mas a atividade deve ser confirmada por testes *in vitro* de suscetibilidade.

Referências Bibliográficas

Albert MJ, Nair GB. Vibrio cholerae O139-10 years on. Rev Med Microbiol. 2005;16:135-143.

Dick MH, Guillerm M, Moussy F, et al. Review of two decades of cholera diagnostics—how far have we really come?. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6:e1845.

Harris JB, LaRocque RC, Qadri F, et al. Cholera. Lancet. 2012;379:2466-2476.

Janda JM, Abbott S. The genus Aeromonas: taxonomy, pathogenicity, and infection. Clin Microbiol Rev. 2010;23:35–73.

Jones M, Oliver J. Vibrio vulnificus: disease and pathogenesis. Infect Immun. 2009;77:1723–1733.

Kitaoka M, Miyata ST, Unterweger D, et al. Antibiotic resistance mechanisms of Vibrio cholerae. J Med Microbiol. 2011;60:397–407.

Miyata ST, Bachmann V, Pukatzki S. Type VI secretion system regulation as a consequence of evolutionary pressure. *J Med Microbiol.* 2013;62:663–676.

Moore S, Thomson N, Mutreja A, et al. Widespread epidemic cholera due to a restricted subset of *Vibrio cholerae* clones. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:373–379.

Parker J, Shaw J. Aeromonas spp. clinical microbiology and disease. J Infect. 2011;62:109-118.

Pastor M, Pedraz J, Esquisabela A. The state-of-the-art of approved and under-development cholera vaccines. Vaccine. 2013;31:4069–4078.

Snower DP, Ruef C, Kuritza AP, et al. *Aeromonas hydrophila* infection associated with the use of medicinal leeches. *J Clin Microbiol*. 1989;27:1421–1422.

Zhang L, Orth K. Virulence determinants for Vibrio parahaemolyticus infection. Curr Opin Microbiol. 2013;16:70–77.

Pseudomonas e Bactérias Relacionadas

Um homem de 70 anos, que tinha sido admitido há 7 dias para a unidade de cuidados intensivos por dispneia aguda e uma temperatura de 39°C, desenvolveu tosse produtiva de novo e dor pleurítica torácica associada. O exame do tórax revelou crepitações nas bases de ambos os pulmões, com roncos presentes em ambos os lóbulos superiores; a radiografia de tórax indicou opacidades bilaterais consistentes com broncopneumonia. Culturas de escarro e sangue foram realizadas e, 24 horas mais tarde, o laboratório relatou o isolamento de *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas* os outros bacilos não fermentadores discutidos neste capítulo são patógenos oportunistas responsáveis principalmente por infecções em pacientes hospitalizados, pacientes com deficiências inatas de imunidade (p.ex., função pulmonar comprometida), ou pacientes que sofreram trauma (p.ex., contaminação de uma ferida).

- 1. Quais fatores epidemiológicos são compartilhados por Pseudomonas, Burkholderia e Stenotrophomonas?
- 2. Qual é o fator de virulência mais importante em *Pseudomonas aeruginosa*, e como ele funciona?
- 3. Qual população de pacientes está sob risco para infecções com *Burkholderia cepacia*? Que tipo de infecção ocorre nesses pacientes?
- 4. Quais os antibióticos são geralmente eficazes contra *Pseudomonas*, mas não *Stenotrophomonas*, e contra *Stenotrophomonas* maltophilia, mas não *P. aeruginosa*?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Pseudomonas aeruginosa

Palavras-gatilho

Cápsula, exotoxina A, ambiente, oportunista, infecções nosocomiais

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos pequenos, arranjados tipicamente aos pares
- Aeróbios obrigatórios; oxidantes da glicose; necessidades nutricionais simples
- Cápsula polissacarídica mucoide
- Vários fatores de virulência, incluindo adesinas, (p.ex., flagelos, *pili*, lipopolissacarídeo, cápsula de alginato) secretam toxinas e enzimas, (p.ex., exotoxina A, piocianina, pioverdina, elastases, proteases, fosfolipase C, exoenzimas S e T) e resistência antibiótica (intrínseca, adquirida e adaptativa)

Epidemiologia

- Onipresente na natureza e na maioria dos locais ambientais do hospital (p.ex., flores, pias, banheiros, ventilação mecânica e equipamento de diálise)
- Não há incidência sazonal de doença
- Podem colonizar transitoriamente os tratos respiratório e gastrointestinal de pacientes hospitalizados, particularmente aqueles tratados com antibióticos de amplo espectro, expostos a equipamentos de terapia respiratória ou hospitalizados por longos períodos
- Os pacientes com alto risco de desenvolvimento de infecções incluem pacientes neutropênicos ou imunocomprometidos, pacientes com fibrose cística e pacientes com queimaduras

Doenças

• Doenças incluem infecções do trato respiratório, trato urinário, pele e tecidos moles, olhos, ouvidos, bem como bacteremia e endocardite

Diagnóstico

- Crescem rapidamente em meios de cultura comuns
- Identificados pelas características coloniais (p.ex., β-hemólise, pigmento verde, odor semelhante à uva) e testes bioquímicos simples (p.ex., reação positiva da oxidase; utilização de carboidratos pela via oxidativa)

Tratamento, Prevenção e Controle

- Uso combinado de antibióticos efetivos (p.ex., aminoglicosídeos e β-lactâmicos) geralmente é necessário; monoterapia é normalmente ineficaz e pode selecionar cepas resistentes
- Medidas de controle de infecção hospitalar deveriam se concentrar na prevenção da contaminação de equipamentos médicos estéreis e transmissão nosocomial; uso desnecessário de antibióticos de amplo espectro pode selecionar microorganismos resistentes

Pseudomonas e bacilos não fermentadores relacionados são patógenos oportunistas de plantas, animais e seres humanos. Para complicar a nossa compreensão desses micro-organismos, sua classificação taxonômica sofreu inúmeras mudanças nos últimos anos. Embora existam muitos gêneros, a maioria dos isolados clinicamente significativos está compreendida em cinco gêneros: Pseudomonas, Burkholderia, Stenotrophomonas, Acinetobacter e Moraxella. Estes micro-organismos serão o foco deste capítulo (Tabela 27-1).



Tabela 27-1

Bacilos Gram-negativos não Fermentadores Importantes

Micro- organismo	Origem Histórica	
Acinetobacter	akinetos, incapazes de se mover; bactrum, bacilo (bacilos imóveis)	
A. baumannii	baumannii, nomeado pelo microbiologista Baumann	
A. iwoffii	lwoffii, nomeado pelo microbiologista Lwoff	
Burkholderia	Burkholderia, nomeado pelo microbiologista Burkholder	
В. серасіа	cepacia, semelhante a cebola (inicialmente as cepas foram isoladas de cebolas podres)	
B. mallei	mallei, a doença dos equinos (glanders)	
B. pseudomallei	pseudes, falso; mallei (refere-se ao fato de esta espécie ser estritamente relacionada com B. mallei)	
Moraxella	Moraxella, nomeada pelo oftalmologista suíço Morax, que primeiro identificou as espécies	
M. catarrhalis	catarrhus, coriza ou catarro (refere-se à inflamação das membranas mucosas do trato respiratório)	
Pseudomonas	pseudes, falso; monas, unitário (refere-se ao arranjo celular observado na coloração de Gram, no qual os micro-organismos em pares parecem com células únicas)	
P. aeruginosa	aeruginosa, cobre oxidado ou verde (refere-se aos pigmentos azul e amarelo produzidos por essa espécie que aparece como verde)	
Stenotrophomonas	stenos, estreito; trophos, aquele que se alimenta; monas, unitário (refere-se à observação de que estas são bactérias exigentes, que necessitam de alguns substratos para crescimento)	
S. maltophilia	Malt, malte; philia, amigo (amigo do malte)	

Pseudomonas

O gênero *Pseudomonas* inicialmente consistia em uma grande coleção heterogênea de bactérias não fermentadoras que foram agrupadas em razão da sua similaridade de morfologia. Elas eram chamadas de pseudomonadas, porque são comumente dispostas em pares de células que se assemelham a uma única célula (Fig. 27-1). Em 1992, esse gênero foi dividido em novos gêneros (incluindo *Burkholderia* e *Stenotrophomonas*); no entanto, existem ainda mais de 200 espécies de *Pseudomonas*. *Pseudomonas aeruginosa* é a espécie mais importante e a que será discutida aqui.

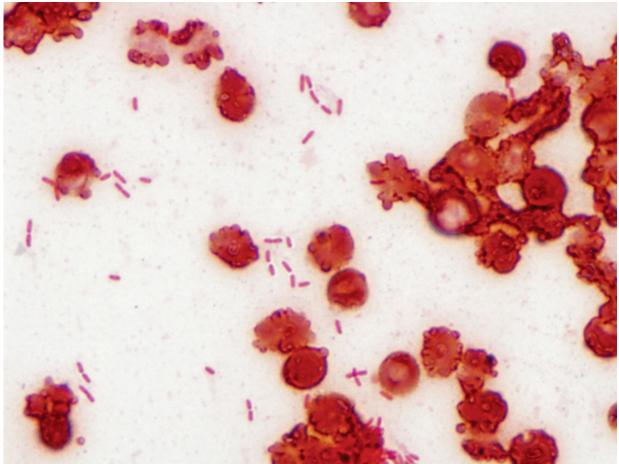


FIGURA 27-1 Coloração de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* com células arranjadas de forma isolada e aos pares.

Membros do gênero são encontrados no solo, na matéria orgânica deteriorada, na vegetação e na água. Infelizmente, eles também são encontrados por todo o ambiente hospitalar em reservatórios úmidos, como alimentos, arranjos de flores, pias, banheiros, espanadores de chão, equipamentos de fisioterapia respiratória e diálise, e até mesmo em soluções desinfetantes. É incomum persistirem em seres humanos como parte da microbiota normal, exceto em pacientes hospitalizados e ambulatoriais, hospedeiros imunodeprimidos.

A ampla distribuição ambiental de *Pseudomonas* é possibilitada por seus requisitos de crescimento simples e de versatilidade nutricional. Elas são capazes de usar muitos compostos orgânicos como fontes de carbono e nitrogênio, e algumas cepas podem até crescer em água destilada usando pequenas quantidades de nutrientes essenciais. Esses microorganismos também possuem muitos fatores estruturais, enzimas e toxinas que aumentam sua virulência e os tornam resistentes aos antibióticos mais comumente utilizados. De fato, é surpreendente que elas não sejam os patógenos mais comuns, considerando sua onipresença, a capacidade de crescer em qualquer ambiente, propriedades de virulência e resistência a muitos antibióticos. Felizmente, as infecções causadas por *Pseudomonas* são **principalmente oportunistas** (i.e., limitadas aos pacientes que recebem antibióticos de amplo espectro que suprimem a população bacteriana intestinal normal ou aos pacientes com as defesas comprometidas). Além disso, a expressão de caracteristicas de virulência é regulada por sistemas complexos de sinalização de densidade celular, (*quorum sensing*) que, por sua vez, são influenciados por fatores do hospedeiro, tais como a presença de soro e de citocinas.

Fisiologia e Estrutura

Espécies de *Pseudomonas* são bastonetes Gram-negativos geralmente móveis, retos ou ligeiramente curvados (0,5 a 1,0 × 1,5 a 5,0 μm) tipicamente **dispostos em pares** (Fig. 27-1). Os micro-organismos utilizam carboidratos por meio da **respiração aeróbia**, com o oxigênio como receptor final de elétrons. Embora descrito como aeróbios obrigatórios, eles podem crescer anaerobicamente usando nitrato ou arginina como alternativa de receptor de elétrons. A presença de **citocromo-oxidase** (detectada em teste rápido, 5 minutos), em espécies de *Pseudomonas*, é usada para diferenciá-las das Enterobacteriaceae e de *Stenotrophomonas*. Algumas cepas aparecem mucoides, em consequência da abundância de um polissacarídeo capsular (Fig. 27-2); essas cepas são particularmente comuns em pacientes com fibrose cística (FC). Algumas espécies produzem **pigmentos difusíveis** (p.ex., piocianina [azul], pioverdina [verde-amarelado], piorrubina [vermelho-amarronzado]), que lhes dão aparência característica em cultura e simplificam a identificação preliminar.

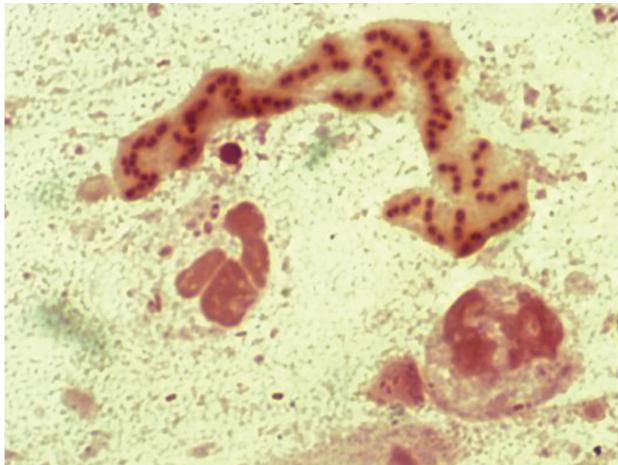


FIGURA 27-2 Coloração de Gram de *Pseudomonas aeruginosa* envolta por material capsular mucoide em paciente com fibrose cística.

Patogênese e Imunidade

P. aeruginosa tem muitos fatores de virulência, incluindo adesinas, toxinas e enzimas. Além disso, o sistema de secreção utilizado por *Pseudomonas*, o sistema do tipo III, é particularmente eficaz em injetar toxinas na célula hospedeira. Apesar da diversidade de fatores de virulência, a maioria dos especialistas acredita que vários fatores atuam em conjunto em *P. aeruginosa* para causar doença.

Adesinas

Assim como acontece com muitas bactérias, a adesão às células do hospedeiro é crítica para o estabelecimento da infecção. Pelo menos quatro componentes de superfície de *P. aeruginosa* facilitam essa adesão: (1) flagelos, (2) *pili*, (3) lipopolissacarídeo (LPS) e (4) alginato. Flagelos e *pili* também medeiam a motilidade em *P. aeruginosa*, e o lipídio A componente do LPS é responsável pela atividade de endotoxina. O alginato é um exopolissacarídeo mucoide que forma uma **cápsula** proeminente na superfície bacteriana e protege o micro-organismo da fagocitose e da ação dos antibióticos. A produção desse polissacarídeo mucoide ocorre sob regulação complexa. Os genes que controlam a produção do polissacarídeo alginato podem ser ativados em pacientes, tais como aqueles com FC ou outras doenças respiratórias crônicas, que estão predispostos à colonização por longo prazo com essas cepas mucoides de *P. aeruginosa*.

Toxinas Secretadas e Enzimas

Exotoxina A (ETA) é conhecida como um dos mais importantes fatores de virulência produzidos por cepas patogênicas de *P. aeruginosa*. Essa toxina **interrompe a síntese de proteínas** bloqueando a elongação da cadeia peptídica em células eucariotas, assim como a toxina da difteria produzida por *Corynebacterium diphtheriae*. No entanto, as toxinas produzidas por esses dois micro-organismos são estrutural e imunologicamente diferentes, e ETA é menos potente do que a toxina da difteria. ETA provavelmente contribui para a dermatonecrose que ocorre em queimaduras de feridas, danos corneanos nas infecções oculares e danos teciduais nas infecções pulmonares crônicas.

Um pigmento azul, **piocianina**, produzido por *P. aeruginosa* catalisa a produção de superóxido e peróxido de hidrogênio, formas tóxicas de oxigênio. Esse pigmento também estimula a liberação de interleucina (IL)-8, que conduz a aumento na atração de neutrófilos. Um pigmento verde-amarelo, **pioverdina**, é um sideróforo, que se liga ao ferro para uso no metabolismo. Esse pigmento também regula a secreção de outros fatores de virulência, incluindo ETA.

Duas elastases, LasA (**serina protease**) e LasB (**zinco metaloprotease**), atuam em sinergia para degradar elastina, resultando em danos aos tecidos que contêm elastina e danos ao parênquima pulmonar e lesões hemorrágicas (**ectima gangrenoso**) associadas a infecções disseminadas causadas por *P. aeruginosa*. Essas enzimas podem também degradar

componentes do complemento e inibir a quimiotaxia e a função dos neutrófilos, acarretando maior disseminação e dano tecidual em infecções agudas. Infecções crônicas causadas por *Pseudomonas* são caracterizadas pela formação de anticorpos LasA e LasB, com a deposição de complexos imunes nos tecidos infectados. Similar às elastases, a **protease alcalina** contribui para a destruição dos tecidos e disseminação de *P. aeruginosa*. Ela também interfere na resposta imune do hospedeiro.

A **fosfolipase** C é uma hemolisina termolábil, que rompe os lipídios e a lecitina, facilitando a destruição dos tecidos. O papel exato dessa enzima nas infecções do trato respiratório e urinário (UTI) é incerto, embora importante associação entre a produção de hemolisina e doença tenha sido reconhecida.

Exoenzimas S e **T** são toxinas extracelulares produzidas por *P. aeruginosa*. Quando o sistema de secreção do tipo III insere as proteínas no seu alvo na célula eucariótica, ocorre dano celular epitelial, facilitando propagação bacteriana, invasão do tecido e necrose. Essa citotoxicidade é mediada por rearranjo de actina.

Resistência aos Antibióticos

A *P. aeruginosa* é intrinsecamente **resistente a muitos antibióticos** e pode adquirir resistência a antibióticos adicionais através da transferência horizontal de genes de resistência e mutações. Os principais mecanismos responsáveis pela **resistência intrínseca** são a baixa taxa de circulação de antibióticos através dos poros da membrana exterior para o interior da célula bacteriana, combinada com o rápido efluxo de antibióticos devido à regulação intrínseca de bombas de efluxo. A resistência aos antibióticos adicionais, tais como aminoglicosídeos e β-lactâmicos, pode ser adquirida (**resistência adquirida**) através de transferência horizontal de genes de resistência em plasmídeos e outros elementos genéticos ou mutações dos genes que aumentam a expressão de resistência. Uma terceira forma de resistência, a **resistência adaptativa**, é induzida quando a *Pseudomonas* é exposta a estímulos ambientais ou antibióticos específicos. Por exemplo, a formação de biofilme, tal como nos pulmões de um paciente com FC ou na superfície de cateteres, pode desencadear genes reguladores bacterianos que permitem a expressão da resistência. Do mesmo modo, a exposição a alguns antibióticos β-lactâmicos (p.ex., ceftazidima) desencadeia a expressão do gene ampC em *Pseudomonas* que resulta na inativação de diversos antibióticos β-lactâmicos. É importante reconhecer que os testes de suscetibilidade *in vitro* podem identificar resistência devido aos mecanismos intrínsecos e adquiridos, mas provavelmente não seriam capazes de prever a resistência adaptativa, subjacente às limitações desses testes de laboratório.

Epidemiologia

Pseudomonas é um patógeno oportunista presente em uma variedade de ambientes. A capacidade de isolar esse microorganismo, a partir de superfícies úmidas, é limitada apenas pelo esforço para encontrar o microorganismo. Pseudomonas tem exigências nutricionais mínimas, tolera uma vasta gama de temperaturas (4°C a 42°C) e é resistente a muitos antibióticos e desinfetantes. Com efeito, a recuperação de Pseudomonas a partir de uma fonte ambiental (p.ex., na pia do hospital ou no piso) significa muito pouco, a menos que haja evidência epidemiológica de que o local contaminado é um reservatório para a infecção.

Além disso, o isolamento de *Pseudomonas* a partir de um paciente hospitalizado é preocupante, mas, normalmente, não justifica intervenção terapêutica, a menos que haja evidência de doença. A recuperação de *Pseudomonas*, particularmente outras espécies que não *Pseudomonas aeruginosa*, a partir de uma amostra clínica pode representar colonização transitória do paciente ou contaminação ambiental da amostra durante a colheita ou o processamento laboratorial. Os pacientes com alto risco de desenvolver infecções por *P. aeruginosa* incluem pacientes com neutropenia ou imunocomprometidos, pacientes com FC, pacientes com queimaduras e os indivíduos que receberam antibióticos de amplo espectro.

Doenças Clínicas (Quadro 27-1)

Infecções Pulmonares

Infecções do trato respiratório inferior causadas por *P. aeruginosa* variam em gravidade, desde a **colonização assintomática** ou inflamação benigna dos brônquios (**traqueobronquite**) até **broncopneumonia necrotizante** grave. A colonização é observada em pacientes com FC, outras doenças pulmonares crônicas ou neutropenia. Infecções em pacientes com FC têm sido associadas à exacerbação da doença de base até doença pulmonar invasiva. Cepas mucoides são comumente isoladas a partir destes pacientes e difíceis de erradicar porque as infecções crônicas com essas bactérias estão associadas a um aumento progressivo na resistência antibiótica adquirida e na expressão de resistência adaptativa (veja discussão anterior).



Quadro 27-1 Resumos Clínicos de Bacilos Gram-negativos não Fermentativos

Pseudomonas aeruginosa

Infecções pulmonares: variam de irritação leve nos brônquios (traqueobronquite) a necrose do parenquima brônquico (broncopneumonia necrotizante)

Infecções primárias da pele: infecção oportunista de ferida existente (p.ex., queimaduras) a infecções localizadas dos folículos pilosos (p.ex., associadas a imersão em águas contaminadas, assim como em banheiras de hidromassagem)

Infecções do trato urinário: infecções oportunistas em pacientes com sonda vesical de demora seguida de exposição a antibióticos de amplo espectro (selecionados para bactérias resistentes aos antibióticos)

Infecções do ouvido: podem variar de irritação leve no ouvido externo ("ouvido de nadador") a destruição invasiva do crânio adjacente à infecção auricular

Infecções oculares: infecções oportunistas das córneas levemente danificadas

Bacteremia: disseminação da bactéria a partir da infecção primária (p.ex., pulmonar) a outros órgãos e tecidos; pode ser caracterizada por lesões necróticas da pele (ectima gangrenoso)

Complexo Burkholderia cepacia

Infecções pulmonares: a maioria das infecções afeta pacientes com doença granulomatosa crônica ou fibrose cística e essas infecções podem progredir para destruição do tecido pulmonar

Infecções oportunistas: infecções do trato urinário em pacientes cateterizados; bacteremia em pacientes imunocomprometidos com cateter intravascular contaminado

Burkholderia pseudomallei

Infecções pulmonares: podem variar de colonização assintomática a formação de abscesso

Stenotrophomonas maltophilia

Infecções oportunistas: uma variedade de infecções (as mais comuns são bacteremias e pneumonias) em pacientes imunocomprometidos previamente expostos à terapia antimicrobiana de amplo espectro

Espécies de Acinetobacter

Infecções pulmonares: patógeno oportunista em pacientes que receberam terapia respiratória **Infecções de feridas:** traumática (p.ex., resultado de conflitos militares) e feridas nosocomiais

Moraxella catarrhalis

Infecções pulmonares: traqueobronquite ou broncopneumonia em pacientes com doença pulmonar crônica

Condições que predispõem pacientes imunocomprometidos a infecções por *Pseudomonas* incluem (1) terapia anterior com antibióticos de amplo espectro que eliminam a população bacteriana normal, protetora, e (2) o uso de equipamento de ventilação mecânica, que pode introduzir o micro-organismo nas vias aéreas inferiores. Doença invasiva nessa população é caracterizada por broncopneumonia difusa, tipicamente bilateral, com formação de microabscesso e necrose do tecido. A taxa de mortalidade é tão elevada quanto 70%.

Infecções Primárias da Pele e de Tecidos Moles

P. aeruginosa pode causar uma variedade de infecções cutâneas primárias. As mais reconhecidas são as infecções de **feridas de queimaduras** (Fig. 27-3). A colonização de um ferimento de queimadura, seguida do dano vascular localizado, necrose de tecidos e, finalmente, bacteremia, é comum em pacientes com queimaduras graves. A superfície úmida da queimadura e a incapacidade dos neutrófilos de penetrarem nas feridas predispõem os pacientes a tais infecções. Tratamento de feridas com cremes antibióticos tópicos apresenta apenas sucesso limitado no controle dessas infecções.



FIGURA 27-3 Infecção de ferida de queimadura por *Pseudomonas*. (De Cohen J, Powderly WB: Infectious diseases, ed 2, St Louis, 2004, Mosby.)

Foliculite (Fig. 27-4; Caso Clínico 27-1) é outro tipo de infecção comumente causado por *Pseudomonas*, resultando de imersão em água contaminada (p.ex., banheiras de hidromassagem, piscinas). Infecções secundárias com *Pseudomonas* também ocorrem em pessoas que têm acne ou que depilam as pernas. Finalmente, *Pseudomonas aeruginosa* pode causar infecções nas unhas de pessoas cujas mãos são frequentemente expostas à água ou à atividade de manicures.



FIGURA 27-4 Foliculite por Pseudomonas. (De Cohen J, Powderly WB: Infectious diseases, ed 2, St Louis, 2004, Mosby.)



Caso Clínico 27-1 Foliculite por Pseudomonas

Ratman et al. (*J Clin Microbiol* 23:655-659, 1986) descreveram um surto de foliculite causado por *P. aeruginosa* em hóspedes de um hotel canadense. Um número de hóspedes reclamou de *rash* cutâneo que começou com pápulas

eritematosas pruriginosas e progrediu para pústulas eritematosas distribuídas pelas axilas, em cima do abdome e nas nádegas. Para a maioria dos pacientes, o *rash* se resolveu espontaneamente em um período de 5 dias. O departamento de saúde local investigou o surto e determinou que a fonte foi uma banheira de hidromassagem contaminada com altas concentrações de *P. aeruginosa*. O surto terminou quando a banheira foi esvaziada, limpa e desinfetada com hipoclorito. Infecções de pele tais como essa são comuns em indivíduos com exposição extensiva a água contaminada.

P. aeruginosa também é a causa mais comum de **osteocondrite** (inflamação do osso e da cartilagem) do pé depois de uma lesão penetrante (p.ex., quando se pisa em um prego).

Infecções do Trato Urinário

A infecção do trato urinário está presente, principalmente, em pacientes com **sonda vesical de demora** de longo prazo. Tipicamente, esses pacientes são tratados com diversos regimes de antibióticos, que tendem a selecionar espécies de bactérias mais resistentes, tais como *Pseudomonas*.

Infecções de Ouvido

A **otite externa** é frequentemente causada por *P. aeruginosa*, sendo a piscina um importante fator de risco ("**ouvido de nadador**"). Essa infecção localizada pode ser tratada com antibióticos tópicos e secagem. A **otite externa maligna** é uma forma virulenta da doença observada, sobretudo, em pessoas com diabetes e pacientes idosos, podendo invadir os tecidos subjacentes, danificar os nervos cranianos e ossos, e ser fatal. Terapia antimicrobiana agressiva e intervenção cirúrgica são necessárias para os pacientes com otite média maligna. *P. aeruginosa* também está associada a **otite média crônica**.

Infecções Oculares

As infecções do olho ocorrem após trauma inicial da córnea (p.ex., abrasão da lente de contato, arranhão na superfície do olho) e, em seguida, exposição a *P. aeruginosa* em água contaminada. As **úlceras da córnea** desenvolvem-se e podem progredir rapidamente, existindo risco de doença ocular a menos que tratamento imediato seja instituído.

Bacteremia e Endocardite

Bacteremia causada por *P. aeruginosa* é clinicamente indistinguível das que são causadas por outras bactérias Gramnegativas. No entanto, a taxa de mortalidade em pacientes afetados é superior em bacteremia causada por *P. aeruginosa* em consequência de (1) predileção do micro-organismo por pacientes imunocomprometidos, (2) dificuldades no tratamento de cepas resistentes aos antibióticos e (3) virulência inerente de *Pseudomonas*. Bacteremia ocorre, com mais frequência, em pacientes com neutropenia, diabetes melito, queimaduras extensas e malignidades hematológicas. A maioria das bacteremias se origina de infecções do trato respiratório inferior, infecções urinárias, da pele e dos tecidos moles (principalmente infecções de feridas de queimaduras). Embora vistas em uma minoria de pacientes com bacteremia, lesões de pele características (**ectima gangrenoso**) podem se desenvolver. As lesões se manifestam como vesículas eritematosas que se tornam hemorrágicas, necróticas e ulceradas. O exame microscópico da lesão mostra micro-organismos, destruição vascular abundante (que explica a natureza hemorrágica das lesões), e ausência de neutrófilos, como seria esperado, em pacientes neutropênicos.

Endocardite causada por *Pseudomonas* é incomum e é principalmente observada em usuários de drogas intravenosas. Esses pacientes contraem a infecção com o uso da parafernália de drogas contaminadas com os micro-organismos da água. A válvula tricúspide é frequentemente envolvida, e está associada a infecção de curso crônico, mas com prognóstico mais favorável do que nos pacientes que apresentam infecções da aorta ou da válvula mitral.

Outras Infecções

P. aeruginosa também é a causa de uma variedade de outras infecções, incluindo aquelas localizadas no trato gastrointestinal, no sistema nervoso central e no sistema musculoesquelético. As condições subjacentes necessárias para a maioria das infecções são (1) presença do micro-organismo em reservatórios com umidade e (2) comprometimento das defesas do hospedeiro (p.ex., trauma cutâneo, eliminação da microbiota normal como resultado do uso de antibióticos, neutropenia).

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Observação de bacilos Gram-negativos finos dispostos isoladamente e em pares é sugestiva de *Pseudomonas*, mas não definitiva — *Burkholderia, Stenotrophomonas* e outras *Pseudomonas* têm morfologia semelhante.

Cultura

Pelo fato de *Pseudomonas* terem necessidades nutricionais simples, as bactérias são facilmente recuperadas em meios comuns de isolamento, como ágar-sangue e ágar MacConkey. Elas exigem incubação aeróbica (a menos que nitrato esteja disponível), de modo que para o seu crescimento em caldo é geralmente necessário que haja uma interface ar-caldo, na qual a concentração de oxigênio é a mais elevada.

Identificação

A morfologia colonial (Fig. 27-5), odor e resultados de alguns testes bioquímicos rápidos (p.ex., reação da oxidase positiva) são suficientes para a identificação preliminar desses isolados. Por exemplo, *P. aeruginosa* cresce rapidamente e tem colônias planas com uma borda espalhada, β-hemólise, pigmentação verde causada pela produção dos pigmentos azul (piocianina) e verde-amarelo (pioverdina), e um odor doce característico, semelhante à uva. Embora identificação definitiva de *P. aeruginosa* seja relativamente fácil, uma extensa bateria de testes bioquímicos pode ser necessária para a identificação de outras espécies.



FIGURA 27-5 Morfologia colonial de *Pseudomonas aeruginosa*; note a pigmentação verde que resulta da produção de dois pigmentos solúveis em água: piocianina azul e fluoresceína amarela.

Tratamento, Prevenção e Controle

A terapia antimicrobiana para infecções por *Pseudomonas* é frustrante, porque (1) as bactérias são tipicamente resistentes à maioria dos antibióticos, e (2) o paciente infectado com defesas comprometidas não favorece a atividade do antibiótico. A **combinação de antibióticos ativos** é geralmente necessária para a terapia ser bem-sucedida em pacientes com infecções graves.

As tentativas para eliminar *Pseudomonas* do ambiente hospitalar são praticamente inúteis, dada a onipresença do microorganismo na água de abastecimento. Práticas eficazes de controle de infecção devem concentrar-se na **prevenção da contaminação dos equipamentos estéreis**, tais como equipamentos de ventilação mecânica e máquinas de diálise, e na contaminação cruzada de pacientes pela equipe médica. O uso inadequado de antibióticos de amplo espectro também deve ser evitado, porque tal utilização pode suprimir a microbiota normal e permitir o crescimento excessivo de cepas resistentes de *Pseudomonas*.

Burkholderia

Em 1992, sete espécies anteriormente classificadas como *Pseudomonas* foram reclassificadas como membros do novo gênero *Burkholderia*. Posteriormente, foi estabelecido que a espécie mais comum, *B. cepacia*, era, na verdade, um complexo de 17 espécies. Como a maioria dos laboratórios não pode identificar as espécies individuais, a coleção é comumente chamada de complexo *B. cepacia*. **Complexo** *B. cepacia*, *Burkholderia gladioli* e *Burkholderia pseudomallei* são importantes patógenos humanos nesse gênero (Quadro 27-1); outras espécies (p.ex., *Burkholderia mallei*) são menos comumente associadas a doença humana.

Como *P. aeruginosa*, espécies de *Burkholderia* podem colonizar uma variedade de superfícies ambientais úmidas e são **patógenos oportunistas** (Caso Clínico 27-2). Pacientes particularmente suscetíveis a infecções pulmonares com complexo *B. cepacia* e *B. gladioli* são aqueles com FC ou doença granulomatosa crônica (a principal imunodeficiência em que os leucócitos têm defeito intracelular na atividade microbicida). Colonização do trato respiratório de pacientes com FC pelo complexo *B. cepacia* tem prognóstico ruim, de tal forma que essa é uma contraindicação para o transplante de pulmão. O complexo *B. cepacia* é também responsável por infecção do trato urinário em pacientes sondados, com septicemia (particularmente em pacientes com cateteres intravenosos contaminados), e outras infecções oportunistas. Com exceção de infecções pulmonares, o complexo *B. cepacia* tem um nível relativamente baixo de virulência, e infecções com o microorganismo não resultam geralmente em morte.



Caso Clínico 27-2 Doença Granulomatosa por Burkholderia

Mclean-Tooke et al. (*BMC Clin Pathol* 7:1–5, 2007) descreveram um homem com 21 anos com linfadenite granulomatosa. Ele apresentou um histórico de perda de peso, febre, hepatosplenomegalia e linfadenopatia cervical. Durante os 3 anos precedentes, o paciente apresentou, em duas ocasiões, aumento dos linfonodos que foram biopsiados, e o exame histológico revelou linfadenite granulomatosa. Um diagnóstico clínico de sarcoidose foi feito e ele foi tratado com 20 mg de prednisolona. Nos 24 meses seguintes, o paciente permaneceu clinicamente bem; entretanto, desenvolveu pancitopenia, e granulomas foram observados na biópsia de medula óssea. Durante a hospitalização corrente, ele desenvolveu tosse. Radiografia do tórax revelou consolidação na base dos pulmões. Uma biópsia do pulmão e o lavado broncoalveolar foram submetidos à cultura, e *B. cepacia* foi isolada de ambos os materiais. Uma avaliação imunológica subsequente do paciente confirmou que ele tinha uma doença genética, doença granulomatosa crônica (DGC). Este caso ilustra a suscetibilidade de pacientes com DGC a infecções por *Burkholderia*.

B. pseudomallei é um saprófita encontrado em solo, água e vegetação. É endêmica no sudeste da Ásia, Índia, África e Austrália. As infecções são adquiridas pela inalação ou, menos frequentemente, por inoculação percutânea. A maioria das pessoas expostas a B. pseudomallei permanece assintomática; no entanto, alcoólatras, diabéticos e indivíduos com insuficiência renal crônica ou doença pulmonar são suscetíveis a infecções oportunistas causadas por esse micro-organismo. A infecção é chamada de melioidose (melis, cinomose; eidos, semelhança; ose, condição: doença semelhante à cinomose equina ou mormo causado por B. mallei). Exposição por via percutânea apresenta-se como infecção cutânea supurativa localizada, acompanhada por linfadenite regional, febre e mal-estar. Essa forma da doença pode se resolver sem qualquer complicação ou progredir rapidamente para sepse grave. Doença pulmonar, que se desenvolve após exposição respiratória, pode variar em gravidade de leve bronquite a pneumonia necrotizante. Cavitação progredindo para sepse grave e morte pode ocorrer se a terapêutica antimicrobiana adequada não for instituída. B. pseudomallei tem sido utilizada em programas de armas biológicas; assim o trabalho com esse micro-organismo é restrito a laboratórios apropriadamente licenciados, e sua recuperação de pacientes justifica uma intervenção pelo departamento de saúde pública. Isolamento de B. pseudomallei, para fins diagnósticos, deve ser abordado com cuidado, pois o micro-organismo é altamente infeccioso, semelhante aos agentes patogênicos respiratórios, tais como Mycobacterium tuberculosis.

Espécies de *Burkholderia* são suscetíveis a **sulfametoxazol- trimetoprim (TMP-SMX)**, que os distingue de *P. aeruginosa*, que é uniformemente resistente. Embora os micro-organismos pareçam ser suscetíveis, *in vitro*, a piperacilina, cefalosporinas de amplo espectro e ciprofloxacina, a resposta clínica é geralmente ruim.

Stenotrophomonas maltophilia

S. maltophilia foi originalmente classificada no gênero *Pseudomonas*; depois no gênero *Xanthomonas*; e, em seguida, transferida para o gênero *Stenotrophomonas*. Apesar da confusão criada por essas mudanças taxonômicas, a importância clínica desse patógeno oportunista é bem conhecida. Ele é responsável por infecções em pacientes debilitados, com mecanismos de defesa prejudicados. Além disso, como *S. maltophilia* é resistente à maioria dos antibióticos β-lactâmicos e aminoglicosídeos comumente utilizados, pacientes recebendo terapia antibiótica de longo prazo com esses fármacos estão particularmente em risco de contrair infecções.

As infecções hospitalares mais comuns causadas por *S. maltophilia* são bacteremia e pneumonia, com ambas associadas a uma alta incidência de complicações e morte (Caso Clínico 27-3). As infecções hospitalares com esse micro-organismo têm sido atribuídas a cateteres intravenosos, soluções desinfetantes, equipamentos de ventilação mecânica e máquinas de gelo contaminados.



Caso Clínico 27-3 Infecção Disseminada por Stenotrophomonas em Paciente

Neutropênico

Wan-Yee et al. (*Ann Acad Med Singapore* 35:897–900, 2006) descreveram uma menina chinesa de 8 anos com leucemia mieloide aguda e história complexa de infecções fúngicas e bacterianas recorrentes durante o tratamento da sua leucemia. Infecções incluíram aspergilose pulmonar e septicemia com *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*,

Streptococcus e Bacillus. Enquanto recebeu tratamento com meropenem (um antibiótico carbapenêmico) e amicacina (um aminoglicosídeo), e durante um período de neutropenia grave, ela tornou-se bacterêmica com *S. maltophilia*, que foi sensível a sulfametoxazol-trimetoprim (SMX-TMP). Nos dias seguintes, ela desenvolveu lesões nodulares na pele, dolorosas e eritematosas. *S. maltophilia* foi isolada de biópsia de uma das lesões. Tratamento com SMX-TMP intravenoso resultou em gradual resolução das lesões da pele. Este caso ilustra a predileção de *Stenotrophomonas* para causar doença em pacientes imunocomprometidos que receberam um antibiótico carbapenêmico. Caracteristicamente, *Stenotrophomonas* é uma das poucas bactérias Gram-negativas que são intrinsecamente resistentes aos carbapenêmicos e aminoglicosídeos e suscetíveis a SMX-TMP.

A terapia antimicrobiana é complicada, porque o micro- organismo é resistente a diversos fármacos comumente utilizados. Em contraste com a maioria dos bacilos Gram-negativos, o *Stenotrophomonas* é uniformemente **resistente a carbapenemos** (p.ex., imipenem, meropenem, ertapenem) e tipicamente sensível ao **TMP-SMX**, embora um aumento da resistência tenha sido relatado em alguns estudos. O tratamento é geralmente eficaz com TMP-SMX (se suscetível), ou com a ciprofloxacina combinada com ticarcilina-clavulanato ou ceftazidima.

Acinetobacter

Acinetobacters são cocobacilos Gram-negativos, arredondados, estritamente aeróbicos e oxidase-negativos (Fig. 27-6). São saprófitas **onipresentes**, recuperados na natureza e no hospital e capazes de sobreviver tanto em superfícies úmidas, tais como equipamento de ventilação mecânica, quanto em superfícies secas, como a pele humana (o que é incomum para bacilos Gram-negativos). Essas bactérias são também parte da microbiota orofaríngea normal de pequeno número de pessoas saudáveis e podem proliferar a um grande número durante a internação. O gênero Acinetobacter subdivide-se em dois grupos: espécies oxidantes da glicose (A. baumannii é o mais comum) e espécies não oxidantes da glicose (A. lwoffii e A. haemolyticus são os mais comuns). A maioria das infecções humanas é causada por A. baumannii.

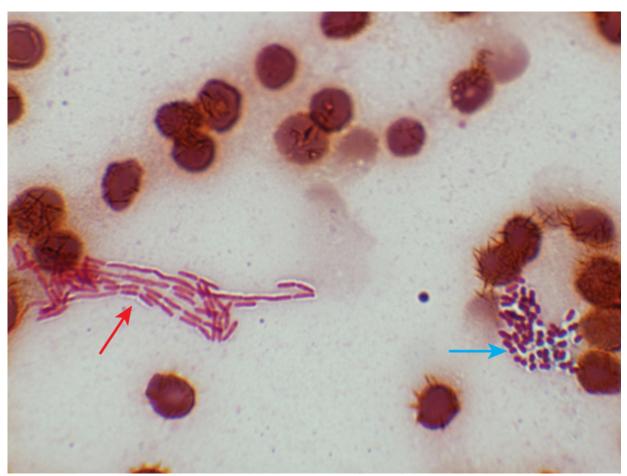


FIGURA 27-6 Coloração de Gram de Acinetobacter baumannii (seta azul) e Pseudomonas aeruginosa (seta vermelha).

Acinetobacters são patógenos oportunistas (Quadro 27-1) que causam infecções em vias respiratórias, trato urinário eferidas, mas também ocasionam septicemia. Os pacientes em risco para infecções por Acinetobacter incluem aqueles recebendo antibióticos de amplo espectro, recuperando-se de cirurgia ou sob ventilação respiratória. Infecções de ferida hospitalar e pulmonares em pacientes hospitalizados têm se tornado um problema significativo, porque muitas das infecções são causadas por cepas resistentes à maioria dos antibióticos, incluindo os carbapenêmicos. Terapia específica

deve ser orientada por testes de suscetibilidade *in vitro*. Cuidados devem ser tomados quando carbapenêmicos ou colistina são selecionados, pois os ensaios *in vitro* podem não detectar, com segurança, cepas heterorresistentes (i.e., uma subpopulação altamente resistente de micro-organismos).

Moraxella

Como outros gêneros discutidos neste capítulo, o gênero *Moraxella* foi reorganizado com base em análises de ácido nucleico. Embora as espécies classificadas nesse gênero continuem a mudar, *M. catarrhalis* é o patógeno mais importante. *M. catarrhalis* é um diplococo Gram-negativo estritamente aeróbico, oxidase-positivo (Fig. 27-7). Esse micro-organismo é uma causa comum de bronquite e broncopneumonia (em pacientes idosos com doença pulmonar crônica), sinusite e otite (Quadro 27-1). Estas últimas duas infecções ocorrem mais comumente em pessoas anteriormente saudáveis. A maioria dos isolados produz β -lactamases e é **resistente à penicilina**; no entanto, essas bactérias são uniformemente suscetíveis à maioria dos outros antibióticos, incluindo cefalosporinas, eritromicina, tetraciclina, TMP-SMX, e a combinação de penicilinas com um inibidor de β -lactamase (p.ex., ácido clavulânico).

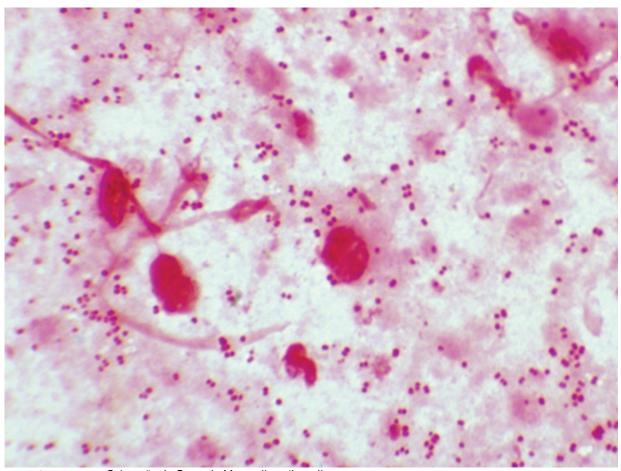


FIGURA 27-7 Coloração de Gram de Moraxella catharralis.

Referências Bibliográficas

Breidenstein E, de la Fuente-Nunez C, Hancock R. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol*. 2011;19:419–426. Broides A, Dagan R, Greenberg D, et al. Acute otitis media caused by *Moraxella catarrhalis*: epidemiology and clinical characteristics. *Clin Infect Dis*. 2009;49:1641–1647.

Brooke J. Stenotrophomonas maltophilia: an emerging global opportunistic pathogen. Clin Microbiol Rev. 2012;25:2–41.

Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug- resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*. 2007;5:939–951.

Hauser A. The type III secretion system of Pseudomonas aeruginosa: infection by injection. Nat Rev Microbiol. 2009;7:654-665.

Ikonomidis A, Neou E, Gogou V, et al. Heteroresistance to meropenem in carbapenem-susceptible *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*. 2009;47:4055–4059.

Jimenez PN, Koch G, Thompson JA, et al. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2012;76:46–65.

Karthikeyan RS, Priya JL, Leal Jr SM, et al. Host response and bacterial virulence factor expression in *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus pneumoniae* corneal ulcers. *PLoS ONE*. 2013;8:e64867.

- Kipnis E, Sawa T, Wiener-Kronish J. Targeting mechanisms of Pseudomonas aeruginosa pathogenesis. Med Mal Infect. 2006;36:78–91.
- Kruczek C, Qaisar U, Comer-Hamood JA, et al. Serum influences the expression of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing genes and QS-controlled virulence genes during early and late stages of growth. *Microbiologyopen*. 2014;3:64–79.
- Ledizet M, Murray TS, Puttagunta S, et al. The ability of virulence factor expression by *Pseudomonas aeruginosa* to predict clinical disease in hospitalized patients. *PLoS ONE*. 2012;7:e49578.
- Looney WJ, Narita M, Muhlemann K. Stenotrophomonas maltophilia: an emerging opportunist human pathogen. Lancet Infect Dis. 2009;9:312–323.
- McGregor K, Chang BJ, Mee BJ, et al. *Moraxella catarrhalis*: clinical significance, antimicrobial susceptibility and BRO beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1998;17:219–234.
- Peleg A, Seifert H, Paterson D. Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev. 2008;21:538-582.
- Voor AF, Severin JA, Lesaffre EM, et al. A systematic review and meta-analyses show that carbapenems use and medical devices are the leading risk factors for carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:2626–2637.
- Yates SP, Jorgensen R, Andersen GR, et al. Stealth and mimicry by deadly bacterial toxins. Trends Biochem Sci. 2006;31:123–133.

Campylobacter e Helicobacter

Uma mulher de 26 anos foi admitida no hospital com uma história de 48 horas de dor abdominal inferior em cólica associada a cerca de 20 defecações líquidas por dia, que continham muco e sangue. Estava afebril e tinha sensibilidade abdominal difusa. Nenhum patógeno foi isolado na cultura de fezes de rotina, mas as amostras também foram inoculadas em um meio seletivo para *Campylobacter* e incubadas microaerofilicamente a 40°C. O exame das placas após 42 horas revelou a presença de colônias mucoides planas não hemolíticas que foram subsequentemente identificadas como *Campylobacter jejuni*. *Campylobacter* e *Helicobacter* são amplamente reconhecidos como patógenos humanos significativos; entretanto, eles só foram reconhecidos nos últimos 20 ou 30 anos.

- 1. Que propriedades de Campylobacter e Helicobacter levaram à sua descoberta tardia?
- 2. Cite as duas disfunções imunológicas às quais o Campylobacter está associado.
- 3. Como Helicobacter pylori sobrevive no estômago?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Campylobacter

Palavras-gatilho

Bacilos curvos, gastroenterite, síndrome de Guillain-Barré, aves comestíveis

Biologia e Virulência

- Bacilo Gram-negativo fino e curvo
- Fatores que regulam a adesão, motilidade e invasão da mucosa intestinal pouco definidos

Epidemiologia

- Infecção zoonótica; preparo inadequado de aves é a principal fonte de infecção para os seres humanos
- Infecção adquirida pelo consumo de alimentos, leite não pasteurizado e água contaminada
- Transmissão de pessoa a pessoa é rara
- A dose necessária para estabelecer a doença é alta, exceto se os ácidos gástricos estão neutralizados ou ausentes
- Distribuição mundial com infecções entéricas observadas durante todo o ano

Doenças

- A doença mais comum é enterite aguda com diarreia, indisposição, febre e dor abdominal
- A síndrome de Guillain-Barré é tida como uma doença autoimune causada por reatividade antigênica cruzada entre oligossacarídeos da cápsula bacteriana e glicoesfingolipídios da superfície dos tecidos neurais
- A maioria das infecções é autolimitada, mas pode persistir por 1 semana ou mais
- C. fetus está associado à septicemia e é disseminado para vários órgãos

Diagnóstico

- A detecção microscópica de bacilos Gram-negativos finos em forma de S em amostras de fezes é específica, mas insensível
- Testes comerciais de amplificação multiplex de ácidos nucleicos são muito sensíveis e específicos para agentes patógenos entéricos e particularmente úteis para a detecção de infecções de *C. jejuni* e *C. coli*
- Cultura requer uso de meio de cultura seletivo e incubação com redução de oxigênio, aumento de dióxido de carbono
 e temperatura elevada (para espécies termofílicas); requer incubação por 2 ou mais dias e é relativamente insensível, a
 menos que sejam utilizados meios frescos
- Detecção de antígenos de bactérias do gênero *Campylobacter* em fezes é moderadamente sensível e muito específica quando comparada com a cultura

Tratamento, Prevenção e Controle

• Na gastroenterite, a infecção é autolimitada e o tratamento consiste em reposição hidroeletrolítica

- Gastroenterites e septicemias graves são tratadas com eritromicina ou azitromicina
- Gastroenterite é prevenida pelo preparo adequado dos alimentos e consumo de leite pasteurizado; prevenção da contaminação da água dos reservatórios também controla a infecção
- Vacinas experimentais, que têm como alvo os polissacarídeos capsulares exteriores, são promissoras para controle de infecções em reservatórios animais

Helicobacter pylori

Palavras-gatilho

Gastrite, úlceras pépticas, câncer gástrico, urease, pessoa a pessoa

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos curvos
- Produção elevada de urease é característica de helicobactérias gástricas (p.ex., *H. pylori*; importante teste diagnóstico para *H. pylori*) e rara em helicobactérias intestinais
- Diversos fatores de virulência contribuem para a colonização gástrica, inflamação, alteração da produção de ácido gástrico e lesão tecidual

Epidemiologia

- As infecções são comuns, principalmente em pessoas de baixo nível socioeconômico ou em países em desenvolvimento
- Os seres humanos são o reservatório primário
- A transmissão de pessoa a pessoa é relevante (tipicamente fecal-oral)
- Ubíquos e em todo o mundo, sem incidência sazonal da doença

Doencas

• H. pylori é uma causa importante de gastrite aguda e crônica, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico e linfoma MALT

Diagnóstico

- Microscopia: exame histológico de amostras de biópsia é sensível e específico
- Teste da urease é relativamente sensível e altamente específico. O teste respiratório da urease não é invasivo
- Teste do antígeno de H. pylori é sensível e específico; realizado em amostras de fezes
- Cultura requer incubação em condições de microaerofilia; o crescimento é lento; relativamente insensível, a menos que várias biópsias sejam cultivadas
- Sorologia é útil para demonstrar a exposição ao H. pylori

Tratamento, Prevenção e Controle

- Esquemas diversos têm sido avaliados para tratamento de infecções por *H. pylori*. Terapia combinada com um inibidor da bomba de prótons (p.ex., omeprazol), um macrolídeo (p.ex., claritromicina) e um betalactâmico (p.ex., amoxicilina) por 2 semanas tem tido alta taxa de sucesso
- Tratamento profilático de indivíduos colonizados não tem se mostrado útil e apresenta efeitos adversos potenciais, como predispor pacientes a adenocarcinomas de esôfago inferior
- Vacinas humanas não estão disponíveis atualmente

Há duas famílias de bactérias Gram-negativas espiraladas relacionadas de importância clínica: **Campylobacteraceae**, que inclui os gêneros *Campylobacter*, *Arcobacter*, e *Sulfurospirillum*, e **Helicobacteraceae**, que inclui *Helicobacter* e *Wolinella*.

Os membros dessas famílias partilham duas propriedades importantes que contribuem para os problemas com a recuperação dos organismos em cultura e identificação por testes bioquímicos tradicionais: (1) requisitos de crescimento em microaerofilia (i.e., crescimento apenas na presença de oxigênio reduzido e dióxido de carbono aumentado) e (2) incapacidade de fermentar ou oxidar os carboidratos. Devido a isso, o significado clínico dos dois agentes patogênicos humanos importantes, *Campylobacter* e *Helicobacter* (Tabela 28-1), só recentemente foi reconhecido.

Espécies Importantes de Campylobacter e Helicobacter

Micro-organismo	Origem Histórica	
Campylobacter	kampylos "curvado"; bacter, "bacilo" (bacilo curvado)	
C. jejuni	<i>jejuni</i> , de jejuno	
C. coli	coli, de cólon	
C. fetus	fetus, referente à observação inicial de infecção em fetos	
C. upsaliensis	upsaliensis, primeira amostra isolada de fezes de cães em uma clínica veterinária em Uppsala, Suécia	
Helicobacter	helix, "espiral"; bacter, "bacilo" (bacilo espiralado)	
H. pylori	pylorus, parte inferior do estômago	
H. cinaedi	cinaedi, de "homossexual" (primeira amostra isolada de homossexuais com gastroenterite)	
H. fennelliae	fennelliae, em homenagem a C. Fennell, o primeiro a isolar a bactéria	

Campylobacter

O gênero *Campylobacter* consiste em **bacilos Gram-negativos em forma de "vírgula"** móveis e pequenos (0,2 a 0,5 µm de largura e 0,5 a 5,0 µm de comprimento) (Fig. 28-1). Bactérias em colônias mais velhas podem aparecer em forma de cocos em vez bacilos. Nos dias de hoje, são reconhecidas 33 espécies e 14 subespécies, muitas delas associadas à doença humana, embora apenas quatro espécies sejam patógenos humanos comuns (Tabela 28-2).

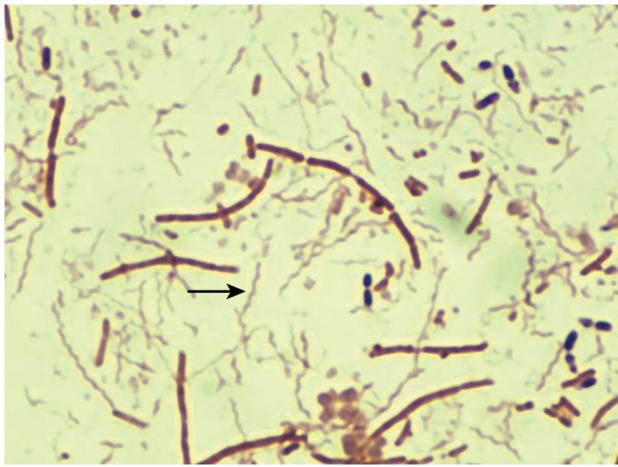


FIGURA 28-1 Cultura mista de bactérias em material fecal. *Campylobacter jejuni* é o bacilo Gram-negativo fino e curvo (*seta*).



Espécies Comuns de Campylobacter Associadas à Doença Humana

Espécies	Hospedeiros e Reservatórios Usuais	Doença Humana
C. jejuni	Aves, bovinos e ovinos	Gastroenterite, infecções extraintestinais, síndrome de Guillain-Barré, artrite reativa
C. coli	Suínos, aves, ovinos, pássaros	Gastroenterites, infecções extraintestinais
C. fetus	Bovinos, ovinos	Infecções vasculares, (p.ex., septicemia, tromboflebite séptica, endocardite), meningoencefalite, gastroenterite
C. upsaliensis	Cachorros e gatos	Gastroenterite, infecções extraintestinais, síndrome de Guillain-Barré

O negrito significa os hospedeiros e as doenças mais comuns.

As doenças causadas por espécies de *Campylobacter* consistem primariamente em gastroenterites e septicemia. *Campylobacter* é a causa mais comum de gastroenterite nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, sendo o *Campylobacter jejuni* responsável pela maioria das infecções e o *Campylobacter coli* associado a uma minoria de casos de gastroenterite por *Campylobacter* nos Estados Unidos (mais comumente observada em países em desenvolvimento). A incidência de gastroenterites por *Campylobacter upsaliensis* é desconhecida, pois ele é inibido por antibióticos presentes nos meios de isolamento de outros *Campylobacter*; entretanto, é estimado que 10% das gastroenterites por *Campylobacter* sejam causadas por essa bactéria. As demais espécies constituem causas raras de gastroenterites ou infecções sistêmicas, com uma exceção: diferentemente de outras espécies, *Campylobacter fetus* é responsável por infecções sistêmicas, como bacteremia, tromboflebite séptica, artrite, aborto séptico e meningite.

Fisiologia e Estrutura

O reconhecimento do papel de *Campylobacter* em doenças gastrointestinais (GI) foi tardio, porque o micro-organismo cresce melhor em atmosfera reduzida de oxigênio (5% a 7%) e aumentada de dióxido de carbono (5% a 10%). Além disso, *C. jejuni* cresce melhor a 42 °C que a 37°C. Essas propriedades têm sido utilizadas para o isolamento seletivo de espécies patogênicas de *Campylobacter* em amostras de fezes. O tamanho pequeno dos micro-organismos (0,2 a 0,5 µm de diâmetro) também tem sido utilizado para recuperar as bactérias por meio de filtração das fezes. *Campylobacter* passa através de filtros de 0,45 µm, enquanto outras bactérias ficam retidas. Ainda que essa característica permita a recuperação inicial das espécies de *Campylobacter* (fezes são filtradas para pesquisa de vírus), o método de filtração de amostras de fezes é um procedimento complexo e não é usado em laboratórios clínicos. As campilobactérias têm uma estrutura de parede celular Gram-negativa com uma cápsula externa polissacarídica; no entanto, em vez de parede celular de lipopolissacarídeos (LPS) com atividade de endotoxina encontrada em outras bactérias Gram-negativas, elas expressam lipo-oligossacarídeos. Os polissacarídeos capsulares (CPS) contribuem para a virulência da bactéria e são os alvos de desenvolvimento de vacinas.

Patogênese e Imunidade

Embora adesinas, enzimas citotóxicas e enterotoxinas tenham sido relatadas em *C. jejuni*, seu papel exato na doença permanece pouco definido. Está claro que o risco de doença é influenciado pela dose infectante. Os micro-organismos são mortos quando expostos ao ácido gástrico, então, condições que diminuam ou neutralizem as secreções gástricas favorecem a doença. A condição imune do paciente também afeta a severidade da doença. Os indivíduos em uma população com doença endêmica alta desenvolvem níveis detectáveis de anticorpos específicos séricos e secretórios e têm doença menos grave. Como seria de esperar, pacientes com hipogamaglobulinemia apresentam doença grave e prolongada por *C. jejuni*.

Caracteristicamente, a doença GI por *C. jejuni* produz **lesão histológica nas superfícies mucosa do jejuno** (como indicado pelo nome da espécie), íleo e cólon. A mucosa aparece ulcerada, edemaciada e sanguinolenta, com abscessos nas criptas das glândulas epiteliais e infiltração da lâmina própria com neutrófilos, células mononucleares e eosinófilos. Esse processo inflamatório é consistente com invasão dos organismos no tecido intestinal. Entretanto, o papel exato das toxinas citopáticas, enterotoxinas e atividade endotóxica detectadas em amostras de *C. jejuni* ainda não foi definido. Por exemplo, cepas sem atividade de enterotoxina continuam plenamente virulentas.

C. jejuni e C. upsaliensis têm sido associados à **síndrome de Guillain-Barré**, uma doença autoimune do sistema nervoso periférico, caracterizada pelo desenvolvimento de fraqueza simétrica por vários dias, necessitando de meses ou mais para recuperação. Embora esa seja uma complicação rara da doença por Campylobacter (≈ 1 em 1.000 infecções diagnosticadas), a síndrome tem sido associada a sorotipos específicos (principalmente o sorotipo O:19 de C. jejuni). Acredita-se que a patogênese dessa doença esteja relacionada com a **reatividade antigênica cruzada** entre lipo-oligossacarídeos de superfície de algumas cepas de Campylobacter e gangliosídios de nervos periféricos. Desse modo, anticorpos dirigidos contra cepas específicas de Campylobacter podem lesar o tecido neural no sistema nervoso periférico. Outra complicação tardia imunorrelacionada com as infecções por Campylobacter é a **artrite reativa**, uma condição caracterizada por inchaços

dolorosos nas articulações das mãos, cotovelos, e joelhos, que podem durar de uma semana a vários meses. Artrite reativa não está relacionada com a severidade da doença diarreica, mas é mais comum em pacientes que têm o fenótipo HLA-B27.

C. jejuni e C. coli raramente causam bacteremia (1,5 caso em 1.000 infecções intestinais); no entanto, C. fetus tende a disseminar- se do trato GI para a corrente sanguínea e focos distais. Os estudos in vitro fornecem uma explicação para esta observação: C. fetus é resistente à destruição mediada por complemento e anticorpos séricos, e C. jejuni e a maioria das outras espécies de Campylobacter são rapidamente destruídos. C. fetus é recoberto por uma proteína termoestável semelhante a uma cápsula (proteína S) que inibe a ligação do C3b à bactéria e a subsequente morte mediada pelo complemento. C. fetus perde sua virulência se esta camada proteica for removida. A bacteremia é particularmente comum em pacientes debilitados e imunocomprometidos, como aqueles com doença hepática, diabetes melito, alcoolismo crônico ou doenças malignas.

Epidemiologia

As infecções por *Campylobacter* são zoonóticas, com uma variedade de reservatórios animais (Tabela 28-2). Os seres humanos adquirem a infecção por *C. jejuni* e *C. coli* após o consumo de alimentos, leite ou água contaminados; **carne de aves contaminadas** são responsáveis por mais da metade das infecções em países desenvolvidos. Em contraste, infecções por *C. upsaliensis* são adquiridas principalmente após contato com cães domésticos (portadores sadios ou com doença diarreica). Produtos alimentares que neutralizam a acidez gástrica (p.ex., leite) reduzem a dose infectante efetivamente. A transmissão fecal-oral por contato pessoa a pessoa também pode ocorrer, mas **é incomum a transmissão da doença por quem manipula alimentos.**

A incidência real de infecções por *Campylobacter* é desconhecida, porque a doença não é notificada aos órgãos oficiais de saúde pública. Pesquisas epidemiológicas indicam que a incidência da doença tem diminuído na última década, provavelmente devido à melhoria das técnicas de manuseio dos alimentos. Entretanto, é estimado que ocorram entre 1,4 e 2 milhões de casos de infecções por *Campylobacter* anualmente nos Estados Unidos, e essas infecções são mais comuns que o somatório de infecções por *Salmonella* e *Shigella*. O número de infecções por *Campylobacter* pode ser ainda maior, pois *C. upsaliensis* não é isolado pelas técnicas comumente usadas. A doença ocorre de modo esporádico durante todo o ano, com pico de incidência no verão. A doença é observada com mais frequência em **lactentes e crianças pequenas**, com um segundo pico de incidência entre 20 e 40 anos. A incidência é maior em países em desenvolvimento, onde ocorre doença sintomática em lactentes e crianças, e o estado de portador assintomático em adultos é frequentemente observado.

As infecções por *C. fetus* são relativamente raras, com menos de 250 casos relatados por ano nos Estados Unidos. Contrastando com *C. jejuni*, essa espécie infecta sobretudo idosos imunocomprometidos.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 28-1)

As infecções GI causadas por *C. jejuni*, *C. coli* e *C. upsaliensis* apresentam-se mais comumente como enterites agudas, com diarreia, febre e forte dor abdominal. Pacientes afetados podem ter 10 ou mais evacuações por dia durante a fase aguda da doença, e as fezes podem ter sangue visível. A doença quase sempre é autolimitada, ainda que os sintomas possam persistir por 1 semana ou mais. As manifestações clínicas podem incluir colite severa, dor abdominal semelhante à da apendicite aguda e infecções entéricas crônicas que se desenvolvem com mais frequência em pacientes imunocomprometidos (p.ex., pacientes com AIDS). Diversas infecções extraintestinais são relatadas, porém são relativamente incomuns. A síndrome de Guillain-Barré e a artrite reativa são complicações bem conhecidas das infecções por *Campylobacter*. *C. fetus* difere das outras espécies, tendo em vista que é primariamente responsável por infecções intravasculares (p.ex., septicemia, endocardite, tromboflebite séptica) e infecções extraintestinais (p.ex., meningoencefalites e abscessos).



Caso Clínico 28-1 Enterite por Campylobacter jejuni e Síndrome de Guillian-

Barré

Scully et al. (*N Engl J Med* 341: 1996-2003, 1999) descreveram o histórico clínico de uma senhora de 74 anos que desenvolveu a síndrome de Guillain-Barré após um episódio de enterite por *C. jejuni*. Depois de 1 semana com febre, diarreia aquosa, náuseas, dor abdominal, fraqueza e fadiga, foi observado que a paciente não articulava claramente as palavras. Ela foi levada para o hospital, onde se mostrou incapacitada de falar, embora estivesse orientada e capaz de escrever coerentemente. Apresentava dormência perioral, ptose bilateral, fraqueza facial, e sua pupila era não reativa. O exame neurológico revelou fraqueza muscular bilateral nos braços e no tórax. No segundo dia de hospitalização, a fraqueza muscular progrediu para a parte superior das pernas. No terceiro dia, o estado mental da paciente permanecia normal, porém ela era capaz de mover apenas o polegar com dificuldade e incapaz de levantar as pernas. A reação à luz era normal, mas os reflexos profundos estavam ausentes. *C. jejuni* foi isolado das fezes da paciente durante a hospitalização, e o diagnóstico clínico da síndrome de Guillain-Barré foi feito. Apesar de tratamento agressivo, a paciente teve perda neurológica significativa 3 meses após a alta de clínica de reabilitação. O caso dessa senhora ilustra uma importante complicação da enterite por *Campylobacter*.

Microscopia

Os micro-organismos são finos e não são facilmente observados em material corado pelo método de Gram. Apesar da baixa sensibilidade do Gram, a observação de **bacilos finos em forma de S** em espécimes fecais é útil como diagnóstico presuntivo (Fig. 28-1).

Detecção Antigênica

Existe, disponível, um imunoensaio comercial para detecção de *C. jejuni* e *C. coli*. Quando comparado com a cultura, o teste tem uma sensibilidade de 80% a 90% e uma especificidade de mais de 95%. Algumas cepas de *C. upsaliensis* também são positivas nesse teste.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Os testes comerciais de amplificação multiplex de ácidos nucleicos para os agentes patógenos entéricos estão ganhando ampla aceitação, porque podem detectar rapidamente um largo espectro de agentes patógenos bacterianos, virais e parasitários com uma sensibilidade superior à cultura. Isso é particularmente verdadeiro para as infecções por *Campylobacter*, embora esses ensaios moleculares sejam em geral restritos à detecção de *C. jejuni* e *C. coli* e não à de outras espécies de *Campylobacter*.

Cultura

C. jejuni, C. coli e C. upsaliensis não foram reconhecidos por muitos anos, porque seu isolamento necessita de **atmosfera de microaerofilia** (i.e., 5% a 7% de oxigênio, 5% a 10% dióxido de carbono), a uma **temperatura de incubação elevada** (i.e., 42°C) em meio de cultura seletivo para suprimir bactérias entéricas não patogênicas. A atmosfera apropriada para o crescimento desses micro-organismos pode ser produzida por dispositivos comerciais geradores de gases colocados em jarra de incubação com os meios de cultura semeados. O meio seletivo deve conter sangue ou carvão para remover os radicais tóxicos de oxigênio e devem ser adicionados antimicrobianos para inibir o crescimento de organismos contaminantes. Infelizmente, os antimicrobianos utilizados na maioria dos meios seletivos para Campylobacter podem inibir algumas espécies (p.ex., C. upsaliensis). Os membros do gênero Campylobacter são organismos de crescimento lento, geralmente necessitando incubação por 48 horas ou mais. C. fetus não é termofílico e não cresce a 42°C; entretanto, seu isolamento requer atmosfera de microaerofilia.

Identificação

A identificação presuntiva baseia-se no crescimento em condições seletivas, morfologia microscópica típica e positividade nos testes de oxidase e catalase.

Detecção de Anticorpo

Testes sorológicos para detecção de imunoglobulina (Ig)M e IgG são úteis para pesquisas epidemiológicas, mas não são usados para o diagnóstico individual de pacientes.

Tratamento, Prevenção e Controle

A gastroenterite por Campylobacter é tipicamente uma infecção autolimitada que pode ser controlada pela reposição dos líquidos e eletrólitos perdidos. Em pacientes com infecções graves ou septicemia, pode ser utilizada antibioticoterapia. Campylobacter é suscetível a uma variedade de antibióticos, incluindo macrolídeos (i.e., eritromicina, azitromicina e claritromicina), tetraciclinas, aminoglicosídeos, cloranfenicol, fluoroquinolonas, clindamicina, amoxicilina/ ácido clavulânico imipenem. Α maioria é resistente а penicilina, cefalosporinas sulfonamidas. Eritromicina ou azitromicina são os antibióticos de escolha para o tratamento das enterites, sendo a tetraciclina e as fluoroquinolonas usadas como antibióticos de segunda linha. A resistência às fluoroquinolonas tem aumentado, de modo que esses fármacos podem ser menos efetivos. Amoxicilina/ácido clavulânico podem ser usados no lugar da tetraciclina, que é contraindicada em crianças pequenas. Infecções sistêmicas são tratadas com aminoglicosídeos, cloranfenicol e imipenem.

Exposição a *Campylobacters* entéricos pode ser prevenida pelo preparo adequado dos alimentos (particularmente aves), evitando-se o consumo de produtos lácteos não pasteurizados e implementando-se medidas para prevenir a contaminação da água potável. Quase 50 sorotipos capsulares de *C. jejuni* são reconhecidos, embora a maioria das estirpes associadas à doença sejam limitadas a um número restrito de sorotipos. Os estudos preliminares demonstram que estes são alvos atraentes para vacinas e, potencialmente, poderiam reduzir a taxa de colonização em animais comestiveis, como galinhas e perus.

Helicobacter

Em 1983, bacilos Gram-negativos espiralados semelhantes a *Campylobacter* foram observados em pacientes com gastrite tipo B (inflamação crônica do antro gástrico [final do piloro]). Os micro-organismos foram inicialmente classificados como *Campylobacter*, sendo depois reclassificados como um novo gênero, *Helicobacter*. Este grupo foi subdividido em

espécies que colonizam o estômago (Helicobacter gástricos) e que colonizam o intestino (Helicobacter êntero-hepáticos). A espécie mais importante é o Helicobacter pylori, um Helicobacter gástrico associado a gastrite, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico e linfoma de células B do tecido linfoide associado à mucosa gástrica (MALT) (Tabela 28-3). As helicobactérias entéricas mais importantes, associadas à gastroenterite e bacteremia, são a Helicobacter cinaedi e Helicobacter fennelliae que foram isoladas mais usualmente em pacientes imunocomprometidos (p.ex., homens homossexuais infectados pelo vírus da imunodeficiência humana [HIV]). Outra espécie de taxonomia incerta, hoje em dia denominada "Helicobacter espécie flexispira", causa bacteremia com celulite e infecções de feridas em pacientes imunocomprometidos (p.ex., pacientes com agamaglobulinemia de Bruton ligada ao X). A discussão neste capítulo será restrita à helicobactéria gástrica, H. pylori.



Tabela 28-3

Espécies de Helicobacter Associadas a Doenças Humanas

Espécies	Hospedeiros Reservatórios Usuais	Doença Humana
H. pylori	Humanos, primatas, porcos	Gastrite, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico, linfomas MALT de células B
H. cinaedi	Humanos, hamster	Gastroenterite, septicemia, proctocolite
H. fennelliae	Humanos	Gastroenterite, septicemia, proctocolite

O negrito significa os hospedeiros e as doenças mais comuns.

Fisiologia e Estrutura

As espécies de *Helicobacter* são caracterizadas pela análise dos genes da região 16S do RNAr, pelos ácidos graxos celulares e pela presença de flagelos polares. Atualmente, 35 espécies foram caracterizadas, mas a taxonomia está mudando rapidamente. Em culturas recentes, *Helicobacter* têm **forma** bacilar ou **espiral** (0,5 a 1,0 µm de largura × 2,0 a 4,0 µm de comprimento), mas, como *Campylobacter*, pode adquirir a forma cocoide em culturas mais velhas (Fig. 28-2).

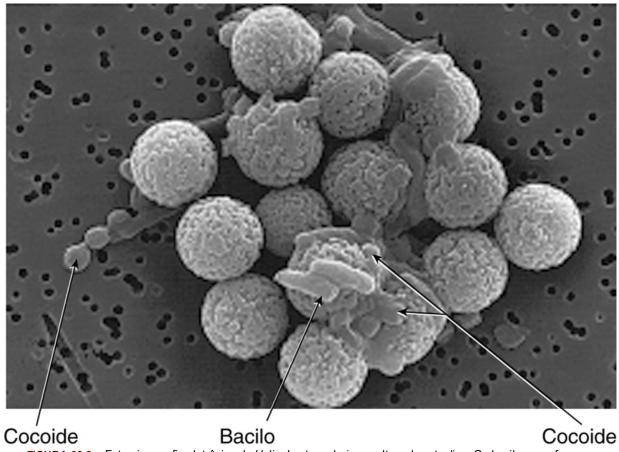


FIGURA 28-2 Fotomicrografia eletrônica de *Helicobacter pylori* em cultura de sete dias. Os bacilos e as formas cocoides estão ligados a contas paramagnéticas utilizadas na separação imunomagnética. (Cortesia do Dr. L. Engstrand, Uppsala, Sweden.)

Todos os *Helicobacter* gástricos são altamente **móveis** (motilidade em zigue-zague) e produzem **urease** em grande quantidade. Acredita-se que essas propriedades sejam importantes para a sobrevivência na acidez gástrica e para o

movimento rápido através da camada viscosa de muco em direção ao ambiente de pH neutro. A maioria dos *Helicobacter* é catalase e oxidase-positiva, e não fermenta ou oxida carboidratos, embora possa metabolizar aminoácidos pela via fermentativa. O lipopolissacarídeo (LPS) presente na membrana externa consiste em lipídio A, oligossacarídeo do núcleo e cadeia lateral O. O lipídio A do *H. pylori* tem baixa atividade de endotoxina quando comparado com outras bactérias Gramnegativas, e a cadeia lateral O é antigenicamente semelhante aos antígenos de grupo sanguíneo de Lewis, o que pode proteger a bactéria do sistema imune.

O crescimento de *H. pylori* e de outras espécies necessita de meio complexo suplementado com sangue, soro, carvão, amido ou gema de ovo; microaerofilia (diminuição de oxigênio e aumento de dióxido de carbono) e uma temperatura entre 30°C e 37°C. Uma vez que esses micro-organismos são relativamente difíceis de serem isolados e identificados por testes bioquímicos tradicionais, a maioria das doenças causadas por *H. pylori* é confirmada por técnicas não culturais (veja mais adiante).

Patogênese e Imunidade

H. pylori é uma bactéria extraordinária por sua capacidade de estabelecer colonização prolongada no estômago de seres humanos não tratados. A maioria das pesquisas sobre fatores de virulência é focada em H. pylori. Vários fatores de virulência contribuem para colonização gástrica, inflamação, alteração da produção de ácido gástrico e destruição celular características da doença por H. pylori. A colonização inicial é facilitada por (1) bloqueio da produção de ácidos por uma proteína bacteriana inibidora e (2) neutralização dos ácidos gástricos pela amônia produzida pela atividade da enzima urease. As bactérias efetivamente móveis podem atravessar o muco gástrico e aderir às células epiteliais gástricas através de várias proteínas de adesão. As proteínas de superfície podem também ligar proteínas do hospedeiro e auxiliar a bactéria a evadir o sistema imune. Lesão tecidual localizada é mediada por subprodutos da urease, mucinase, fosfolipases, e pela atividade da citotoxina A vacuolizante (VacA), uma proteína que, após a penetração nas células epiteliais, produz vacúolos que danificam as células. Outro fator de virulência importante de H. pylori é o gene associado à citotoxina (cagA) que está inserido em uma ilha de patogenicidade a qual contém cerca de 30 genes. Esses genes codificam uma estrutura (sistema secretório tipo IV) que atua como uma seringa, injetando a proteína CagA no interior da célula hospedeira, a qual interfere na estrutura normal do citoesqueleto da célula epitelial. O gene cag PAI (fosforribosil antranilato isomerase) induz a produção de interleucina (II)-8, que atrai neutrófilos. Acredita-se que a liberação de proteases e moléculas de oxigênio ativo pelos neutrófilos contribua para a gastrite e a úlcera gástrica.

Epidemiologia

Inúmeras informações sobre a prevalência do *H. pylori* têm sido obtidas desde 1984, quando o organismo foi isolado a partir de cultivos pela primeira vez. A maior incidência de portadores é encontrada em países em desenvolvimento, onde 70% a 90% da população é colonizada, a maioria antes dos 10 anos. A prevalência de *H. pylori* em países industrializados como os Estados Unidos é menos de 40% e está diminuindo devido à melhoria dos hábitos de higiene e ao tratamento ativo dos indivíduos colonizados. Os estudos também demonstraram que 70% a 100% dos pacientes com gastrite e úlcera gástrica ou duodenal estão infectados com *H. pylori*. **Os seres humanos são o reservatório primário da infecção por** *H. pylori***, e acredita-se que a colonização persista por toda a vida, a menos que o paciente seja especificamente tratado. A transmissão via fecal-oral** é a mais provável.

Uma observação interessante tem sido feita sobre a colonização por *H. pylori*. Esse organismo está claramente associado a doenças como gastrites, úlcera gástrica, adenocarcinoma gástrico e linfomas gástricos MALT. É esperado que o tratamento de indivíduos colonizados e infectados leve à redução dessas doenças. Entretanto, a colonização com *H. pylori* parece oferecer proteção ao refluxo gastroesofagiano e ao adenocarcinoma do esôfago inferior e da cárdia gástrica. Assim, pode ser imprudente eliminar o *H. pylori* de pacientes sem doença sintomática. Certamente, a complexa relação entre *H. pylori* e o hospedeiro ainda precisa ser definida.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 28-2)

Doenças causadas por *Helicobacter* estão diretamente relacionadas com o local de colonização. Por exemplo, *H. pylori* é associado à gastrite, enquanto espécies êntero-hepáticas causam gastroenterite. A colonização por *H. pylori* invariavelmente leva à evidência histológica de **gastrite** (i.e., infiltração de neutrófilos e células mononucleares na mucosa gástrica). A fase aguda da gastrite é caracterizada por uma sensação de plenitude, náuseas, vômito e hipocloridria (diminuição da produção de ácido no estômago). A doença pode evoluir para gastrite crônica, com doença confinada ao antro gástrico (onde poucas células parietais secretoras de ácido estão presentes) em indivíduos com secreção ácida normal, ou envolver o estômago inteiro (pangastrite), se a secreção de ácidos é suprimida. Cerca de 10% a 15% dos pacientes com gastrite crônica desenvolverão úlcera péptica. Esta se desenvolve em locais de intensa inflamação, comumente envolvendo a junção entre o corpo e o antro gástrico (**úlcera gástrica**) ou o duodeno proximal (**úlcera duodenal**). *H. pylori* é responsável por 85% das úlceras gástricas e 95% das úlceras duodenais. O reconhecimento do papel do *H. pylori* tem mudado consideravelmente o tratamento e o prognóstico da úlcera péptica.



Caso Clínico 28-2 A descoberta do Helycobacter pylori

Em 1984, os médicos australianos Marshall e Warren relataram uma descoberta que mudou completamente a abordagem do tratamento da gastrite e da úlcera péptica, bem como definiram a base para o entendimento da causa do adenocarcinoma gástrico e de linfomas MALT. (*Lancet* 1:1311-1315, 1984). Analisando amostras de biópsias gástricas de 100 pacientes que se submeteram à gastroscopia, eles observaram bacilos Gram-negativos curvos semelhantes ao *Campylobacter* em 58 pacientes. As bactérias foram observadas na maioria dos pacientes com gastrite aguda, úlcera gástrica e úlcera duodenal. Apesar de micro-organismos similares terem sido observados associados a tecidos gástricos 45 anos atrás, esse relato estimulou o ressurgimento das investigações sobre o papel desse "novo" organismo nas doenças gástricas. Apesar do ceticismo desse primeiro relato, o significado desse trabalho com *Campylobacter* foi reconhecido em 2005, quando Marshall e Warren receberam o Prêmio Nobel de Medicina.

Eventualmente, a gastrite crônica leva à substituição da mucosa gástrica normal pela fibrose e proliferação de epitélio do tipo intestinal. Esse processo aumenta cerca de 100 vezes o risco de o paciente desenvolver **câncer gástrico**. O risco é influenciado pela cepa de *H. pylori* e pela resposta do hospedeiro (cepas *cagA*-positivas e altos níveis de produção de IL-1 estão associados a maior risco de câncer). A infecção por *H. pylori* também está associada à infiltração de tecidos linfoides na mucosa gástrica. Em um número menor de pacientes, uma população monoclonal de células B pode se desenvolver e evoluir para **linfoma MALT**.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

H. pylori é detectado por exame histológico de biópsias de mucosa gástrica. Embora o organismo possa ser observado em material corado com hematoxilina-eosina ou pela coloração de Gram, a coloração de Warthin-Starry com prata é a mais sensível. Quando uma amostra adequada é coletada e examinada por um microscopista experiente, a sensibilidade e a especificidade do teste se aproximam de 100%, sendo consideradas diagnósticas. Uma vez que esse é um teste invasivo, procedimentos alternativos são preferíveis para o diagnóstico de rotina. O exame de fezes para *Helicobacter* não é confiável, porque os organismos são difíceis de detectar e as helicobactérias não patogênicas podem estar presentes.

Detecção Antigênica

Amostras de biópsia também podem ser testadas para a atividade enzimática da urease. A grande quantidade de urease produzida pelo *H. pylori* permite a detecção de um subproduto alcalino em menos de 2 horas. A sensibilidade do teste direto a partir de biópsia varia entre 75% e 95%; entretanto, a especificidade aproxima-se de 100%, de modo que uma reação positiva é evidência definitiva de uma infecção ativa. Tal como acontece com a microscopia, a limitação desse método é a necessidade de uma biópsia. O teste não invasivo da urease da respiração humana (teste respiratório da ureia), seguido da ingestão de uma solução de ureia isotopicamente marcada, apresenta excelentes sensibilidade e especificidade. Infelizmente, esse teste é relativamente caro devido ao custo dos instrumentos de detecção.

Vários testes imunológicos monoclonais e policlonais para antígenos de *H. pylori* excretados nas fezes têm sido desenvolvidos e demonstrado sensibilidade e especificidade superiores a 95%. Esses testes são fáceis de realizar, de baixo custo e adequados preferentemente para uso em amostras de origem fecal, e não em biópsias. Eles são amplamente recomendados tanto para detecção da infecção por *H. pylori* como para confirmação de cura após tratamento antibiótico.

Testes com Ácido Nucleico

Até o momento, os testes moleculares de amplificação do material nucleico para *H. pylori* e *Helicobacter* êntero-hepáticos são restritos a laboratórios de pesquisa e não são utilizados em laboratórios clínicos.

Cultura

H. pylori adere à mucosa gástrica e não é encontrado em amostras de fezes ou sangue. A bactéria pode ser isolada se o material clínico for inoculado em meio de cultura enriquecido com sangue, hemina ou carvão ativado e incubado em atmosfera de microaerofilia por mais de 2 semanas. Entretanto, o diagnóstico das infecções causadas por H. pylori é mais comumente realizado por métodos não invasivos (p.ex., imunoensaio), sendo a cultura reservada para testes de suscetibilidade aos antimicrobianos.

Identificação

A identificação presuntiva dos isolados baseia-se em suas características de crescimento em condições seletivas, morfologia microscópica típica e detecção da atividade da oxidase, catalase e urease.

Detecção de Anticorpos

A sorologia é um teste de triagem importante para o diagnóstico de *H. pylori*, com vários testes comerciais disponíveis. Ainda que os anticorpos IgM desapareçam rapidamente, IgA e IgG podem persistir por meses ou anos. Como o **título de anticorpos persiste** durante muitos anos, o teste não pode ser utilizado para distinguir entre infecção atual e passada. Além

disso, o título dos anticorpos não está relacionado com a gravidade da doença nem com a resposta ao tratamento. Entretanto, os testes são úteis para documentar a exposição à bactéria, seja para estudos epidemiológicos, ou para avaliação inicial de um paciente sintomático.

Tratamento, Prevenção e Controle

Numerosos esquemas antibióticos têm sido avaliados para o tratamento das infecções por *H. pylori*. O uso de um único antimicrobiano isolado ou combinado com bismuto é ineficaz. Os resultados mais satisfatórios na cura da gastrite ou úlcera péptica têm sido alcançados com a combinação de um **inibidor da bomba de prótons** (p.ex., omeprazol), um **macrolídeo** (p.ex., claritromicina) e um **betalactâmico** (p.ex., amoxicilina), administrados inicialmente por 7 a 10 dias. A falha no tratamento é mais comumente associada à resistência à claritromicina. Testes de suscetibilidade devem ser realizados se o paciente não responder ao tratamento. Metronidazol também pode ser usado no tratamento combinado, mas a resistência é comum.

As infecções por *H. pylori* estimulam intensa resposta inflamatória mediada por células TH1. O uso experimental de vacinas com antígenos de *H. pylori* que estimulam células TH1 leva ao aumento da inflamação. Em contraste, o uso de antígenos associados a adjuvantes de mucosa que induzem resposta das células TH2 é protetor em modelos animais e pode erradicar infecções existentes. A efetividade dessas vacinas em seres humanos ainda precisa ser demonstrada.

Referências Bibliográficas

Algood H, Cover T. *Helicobacter pylori* persistence: an overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19:597–613.

Farinha P, Gascoyne R. Helicobacter pylori and MALT lymphoma. Gastroenterology. 2005;128:1579–1605.

Garza-Gonzalez E, Perez-Perez GI, Maldonado-Garza HJ, et al. A review of *Helicobacter pylori* diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. *World J Gastroenterol*. 2014;20:1438–1449.

Iovine N. Resistance mechanisms in Campylobacter jejuni. Virulence. 2013;4:230–240.

Kabir S. The current status of Helicobacter pylori vaccines: a review. Helicobacter. 2007;12:89–102.

Kusters JG, van Vliet A, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clin Microbiol Rev. 2006;19:449–490.

Nachamkin I, Allos BM, Ho T. Campylobacter species and Guillain-Barré syndrome. Clin Microbiol Rev. 1998;11:555–567.

Passaro D, Chosy EJ, Parsonnet J. Helicobacter pylori: consensus and controversy. Clin Infect Dis. 2002;35:298-304.

Pike B, Guerry P, Poly F. Global distribution of Campylobacter jejuni Penner serotypes: a systematic review. PLoS ONE. 2013;8:1-8.

Plummer P. LuxS and quorum-sensing in Campylobacter. Front Cell Infect Microbiol. 2012;2:1–9.

Solnick J. Clinical significance of Helicobacter species other than Helicobacter pylori. Clin Infect Dis. 2003;36:348–354.

Bacilos Gram-Negativos Diversos

Os bacilos Gram-negativos discutidos neste capítulo constituem uma coleção variada de bactérias clinicamente importantes.

- 1. Que espécies de *Bartonella* estão associadas à doença em pacientes imunocomprometidos e de que forma se apresentam essas infecções?
- 2. Qual é a origem epidemiológica da infecção por Bordetella pertussis?
- 3. Por que a cultura não é um teste de diagnóstico bom para B. pertussis?
- 4. Qual é a fonte mais comum de infecção humana por Francisella e Brucella?
- 5. Que doença é causada por espécies de Cardiobacterium?
- 6. Por que razão a *Legionella* não foi reconhecida antes do surto em Filadélfia, em 1976, na convenção da Legião Americana? **As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br**.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Bordetella pertussis

Palavras-gatilho

Crescimento lento, tosse convulsa ou coqueluche, toxina pertussis, pessoa a pessoa, vacinação

Biologia e Virulência

- Cocobacilos Gram-negativos muito pequenos
- Não fermentativos, mas podem oxidar aminoácidos como fonte de energia
- · Aeróbios estritos
- O crescimento *in vitro* requer a incubação prolongada em meio suplementado com carvão vegetal, amido, sangue ou albumina
- Adesão a células eucarióticas mediadas pela pertactina, hemaglutinina filamentosa e fímbrias; destruição de tecido localizada mediada pela toxina dermonecrótica e citotoxina traqueal; toxicidade sistêmica produzida pela toxina pertussis

Epidemiologia

- A coqueluche é uma doença humana, sem reservatório conhecido (animal ou ambiental)
- Distribuição a nível mundial, com alta prevalência em populações não vacinadas
- Crianças com idade inferior a 1 ano possuem maior risco de infecção e mortalidade
- Em populações vacinadas, a doença ocorre em crianças mais velhas e adultos jovens
- Os indivíduos não vacinados estão em maior risco de contrair a doença
- Disseminação da doença de pessoa a pessoa, através de aerossóis infecciosos

Doencas

- A pertussis caracteriza-se por três fases: catarral, paroxística e de convalescência
- A forma mais grave da doença ocorre nos indivíduos não vacinados, especialmente em crianças

Diagnóstico

- A microscopia é insensível e não específica
- A cultura é específica, mas insensível
- Os testes de amplificação de ácidos nucleicos são os mais sensíveis e específicos
- A detecção de imunoglobulina (Ig) G ou IgA pode ser utilizada como um teste de confirmação

Tratamento, Prevenção e Controle

• O tratamento com macrolídeos (i.e., azitromicina, claritromicina) é eficaz na erradicação dos organismos e na redução da duração da fase infecciosa

- A azitromicina é utilizada na profilaxia
- Vacinas que contêm toxina pertussis inativada, hemaglutinina filamentosa e pertactina são eficazes
- Vacina pediátrica administrada em 5 doses (nas idades de 2, 4 e 6 meses, entre os 15 e 18 meses e entre os 4 e 6 anos); vacina para adultos administrada entre os 11 e 12 anos e entre os 19 e 65 anos

Brucella

Palavras-gatilho

Cocobacilos pequenos, crescimento lento, zoonótico, febre ondulante

Biologia e Virulência

- Cocobacilos Gram-negativos muito pequenos $(0.5 \times 0.6 \text{ a } 1.5 \text{ } \mu\text{m})$
- Aeróbio estrito; não fermenta hidratos de carbono
- Requer meio de cultura complexo e incubação prolongada para crescimento in vitro
- Patógeno intracelular que é resistente à eliminação no soro e pelos fagócitos
- Colônias com superfície lisa associada a virulência

Epidemiologia

- Os reservatórios animais englobam cabras e ovelhas (*Brucella melitensis*); gado e bisonte americano (*Brucella abortus*); suínos, renas e caribus (*Brucella suis*); e cães, raposas e coiotes (*Brucella canis*)
- Infecta tecidos animais ricos em eritritol (p.ex., mama, útero, placenta, epidídimo)
- Distribuição mundial, particularmente na América Latina, África, bacia do Mediterrâneo, Médio Oriente e Ásia Ocidental
- A vacinação dos rebanhos controlou a doença nos Estados Unidos
- A maioria dos episódios da doença nos Estados Unidos é reportada na Califórnia e no Texas, em viajantes provenientes do México
- Os indivíduos com maior risco de contrair a doença são as pessoas que consomem produtos lácteos não pasteurizados, pessoas com contato direto com animais infectados e trabalhadores de laboratório

Doenças

• Ver o Quadro 29-1

Diagnóstico

- A microscopia é insensível
- A cultura (sangue, medula óssea, tecido infectado em caso de infecção localizada) é sensível e específica se for usada incubação prolongada (duração mínima de 3 dias a 2 semanas)
- A sorologia pode ser usada para confirmar o diagnóstico clínico; o aumento de 4 vezes do título ou uma titulação única ≥ 1:160; títulos elevados podem persistir durante meses a anos

Tratamento, Prevenção e Controle

- O tratamento recomendado é a doxiciclina em combinação com rifampicina durante um mínimo de 6 semanas para homens e mulheres não grávidas; trimetoprim-sulfametoxazol para mulheres grávidas e crianças com idade inferior a 8 anos
- A doença, no ser humano, é controlada pela erradicação da doença no reservatório animal, através da imunização e acompanhamento sorológico dos animais para a evidência da doença; da pasteurização dos produtos lácteos; e do uso adequado de tecnologia de segurança em laboratórios clínicos que estejam a trabalhar com este organismo

Francisella tularensis

Palavras-gatilho

Cocobacilos pequenos, crescimento lento, meio suplementado com cisteína, zoonótico, ulceroglandular, oculoglandular, pneumônico

Biologia e Virulência

- Cocobacilos Gram-negativos muito pequenos $(0.2 \times 0.2 \text{ a } 0.7 \text{ } \mu\text{m})$
- Aeróbio estrito; não fermenta hidratos de carbono
- Cápsula antifagocítica
- Patógeno intracelular resistente à eliminação no soro e pelos fagócitos

Epidemiologia

- Os reservatórios englobam mamíferos selvagens, animais domésticos, aves, peixes e artrópodes sugadores de sangue; a doença, no ser humano, está mais frequentemente associada a coelhos, gatos, carrapatos e insetos voadores que causam picada; os seres humanos são hospedeiros acidentais
- Distribuição mundial; mais comum nos Estados Unidos em Oklahoma, Missouri e Arkansas

- Aproximadamente 1.050 casos documentados nos Estados Unidos, apesar de o número efetivo poder ser muito superior
- A dose necessária para causar infecção é pequena quando a exposição ocorre através de artrópodes, através da pele ou por inalação; um grande número de organismos deve ser ingerido para ocorrer infecção por via oral

Doenças

• Sintomas clínicos e prognóstico determinados pela via de infecção: ulceroglandular, oculoglandular, glandular, tífica, orofaríngea, gastrointestinal e pneumônica (Quadro 29-1)

Diagnóstico

- Microscopia é insensível
- O exame cultural em meio suplementado com cisteína (p.ex., ágar-chocolate, ágar extrato de levedura-carvão ou BCYE) é sensível se a incubação prolongada for usada.
- A sorologia pode ser usada para confirmar o diagnóstico clínico; o aumento de 4 vezes do título ou uma titulação única ≥ 1:160; títulos elevados podem persistir durante meses a anos

Tratamento, Prevenção e Controle

- A gentamicina é o antibiótico de eleição; as fluoroquinolonas (p.ex., ciprofloxacina) e doxiciclina possuem boa atividade; as penicilinas e algumas cefalosporinas não são eficazes
- A prevenção da doença engloba evitar reservatórios e vetores de infecção; o uso de vestuário e luvas é protetor
- Vacina viva atenuada disponível, mas raramente usada na doença do ser humano

Legionella pneumophila

Palavras-gatilho

Bacilos delgados pouco coráveis, doença do legionário, febre Pontiac, água contaminada, ágar BCYE

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-negativos, delgados, pleomórficos, não fermentativos
- Coram-se fracamente com reagentes comuns
- Exigente a nível nutricional, com necessidade 1-cisteína e incremento do crescimento com sais de ferro
- Capacidade de replicação nos macrófagos alveolares (e nas amebas na natureza)
- Previne a fusão do fagolisossoma

Epidemiologia

- Capacidade de induzir infecções esporádicas, epidêmicas e nosocomiais
- Encontram-se com frequência em cursos de água naturais, torres de arrefecimento, condensadores e sistemas de água (incluindo sistemas hospitalares)
- Anualmente, estima-se que ocorram entre 10.000 e 20.000 casos de infecção nos Estados Unidos
- Os pacientes com risco elevado para a doença sintomática incluem aqueles com função pulmonar comprometida e os com imunidade celular diminuída (em particular, pacientes submetidos a transplante)

Doenças

• Responsável pela doença do legionário e febre de Pontiac

Diagnóstico

- A microscopia é insensível
- Os testes de antígeno são sensíveis para o sorogrupo 1 da *L. pneumophila*, mas possuem sensibilidade baixa para outros sorogrupos e espécies
- A cultura em ágar extrato de levedura-carvão tamponado é o teste de diagnóstico de eleição
- A seroconversão tem de ser demonstrada; isso pode demorar até 6 meses para ocorrer; uma sorologia positiva pode persistir durante meses
- Os testes de amplificação de ácidos nucleicos possuem sensibilidade e especificidade igual ao exame de cultura

Tratamento, Controle e Prevenção

- Os macrolídeos (p.ex., azitromicina, claritromicina) ou fluoroquinolonas (p.ex., ciprofloxacina, levofloxacina) constituem o tratamento de eleição
- Diminuir a exposição ambiental para reduzir o risco da doença
- No que diz respeito a fontes ambientais associadas à doença, tratar com hipercloração, superaquecimento ou ionização de cobre e prata

Alguns bacilos Gram-negativos clinicamente importantes não foram discutidos nos capítulos anteriores e constituem o assunto deste capítulo (Tabela 29-1).



Bacilos Gram-negativos Importantes Diversos

Organismo	Derivação Histórica		
Bartonella	Denominada segundo Barton, que descreveu originalmente a B. bacilliformis		
B. bacilliformis	bacillus, bastão; forma, formato (forma de bastão)		
B. henselae	hensel, denominado segundo D.M. Hensel, que trabalhou com esse organismo		
B. quintana	quintana, quinta (referente à febre dos 5 dias)		
Bordetella	Denominada segundo Jules Bordet, responsável pelo isolamento do organismo causador da coqueluche		
B. pertussis	per, grave ou muito grave; tussis, tosse (uma tosse grave)		
B. parapertussis	para, semelhante (semelhante à coqueluche)		
B. bronchiseptica	bronchus, traqueia; septicus, séptico (brônquio infectado)		
B. holmesii	Denominada segundo o microbiologista Barry Holmes		
Brucella	Denominada segundo Sir David Bruce, que detectou originalmente o organismo como a causa da "febre ondulante"		
B. abortus	abortus, aborto ou perda gestacional (esse organismo é responsável por abortos em animais infectados)		
B. melitensis	melitensis, relativo à Ilha de Malta (Melita), local onde foi observado o primeiro surto por Bruce		
B. suis	suis, relativo ao porco (organismo patogênico suíno)		
B. canis	canis, relativo ao cão (organismo patogênico canino)		
Cardiobacterium hominis	cardia, coração; bakterion, bacilo pequeno; hominis, relativo ao homem (pequeno bacilo com afinidade para o coração humano; referente à predileção dessa bactéria para causar endocardite no ser humano)		
Francisella	Denominada segundo o microbiologista Americano Edward Francis, que descreveu originalmente a tularemia		
F. tularensis subesp. tularensis (tipo A)	tularensis, relativo ao Condado de Tulare, California, local onde a doença foi descrita pela primeira vez		
F. tularensis subesp. holarctica (tipo B)	holos, total; arctos, regiões do norte (referência à distribuição ao ártico ou regiões do norte)		
F. tularensis subesp. mediaasiatica	media, meio; asiatica, asiática (relativa à Ásia média)		
F. tularensis subesp. novicida	novus, novo; cida, cortar (um "novo assassino")		
F. philomiragia	philos, amante de; miragia, miragem ("amante de miragens," referência à presença na água)		
Legionella pneumophila	Legionella, o primeiro surto descrito foi numa convenção da Legião Americana; pneumôn, pulmão; phila, amor; pneumophila, amor ao pulmão		
Streptobacillus moniliformis	streptos, entrançado ou curvo; bacillus, bacilo; monile, colar; forma, formato (bacilos entrançados, em forma de colar; referente à morfologia pleomórfica da bactéria)		

Bartonella

Como acontece com muitos grupos de bactérias estudadas nos últimos anos, a análise do gene do ácido ribonucleico ribossômico (RNAr) 16S levou a uma reorganização do gênero *Bartonella*. Na atualidade, 29 espécies estão incluídas nesse gênero, estando 3 espécies mais frequentemente associadas à doença humana: *B. bacilliformis*, *B. henselae* e *B. quintana* (Quadro 29-1). Os membros desse gênero são bastões cocobacilares curtos ou bacilares (0,2 a 0,6 x 0,5 a 1,0 µm), Gram-negativos, com requisitos de crescimento exigentes, exigindo incubação prolongada (2 a 6 semanas) para o seu isolamento inicial em cultura.



Quadro 29-1 Resumos Clínicos

Bartonella bacilliformis

Doença de Carrión: doença febril caracterizada por bacteriemia hemolítica aguda (febre de Oroya), seguida do desenvolvimento de nódulos cutâneos crônicos cheios de sangue (verruga peruana)

Bartonella quintana

Febre das trincheiras: doença caracterizada por cefaleias intensas, febre, fraqueza e dor nos ossos longos; cursa com febre recorrente com intervalos de 5 dias

Bacteriemia crônica: mal-estar, mialgias, fadiga, perda de peso, cefaleias e febres recorrentes em pacientes imunocomprometidos

Endocardite subaguda: infecção do endocárdio ligeira, mas progressiva

Angiomatose bacilar: doença vascular proliferativa em pacientes imunocomprometidos com nódulos cheios de sangue com envolvimento da pele, tecidos subcutâneos e ossos

Bartonella henselae

Angiomatose bacilar: a mesma descrição que anteriormente, à exceção do envolvimento primário da pele, gânglios linfáticos, fígado e baço

Endocardite subaguda: a mesma descrição que anteriormente

Doença do arranhão do gato: linfadenopatia regional crônica associada ao arranhão de gato

Bordetella pertussis

Pertussis: após um período de incubação de 7 a 10 dias, a doença caracteriza-se pela fase catarral (assemelha-se a uma constipação simples), progredindo para a fase paroxística (acessos de tosse repetitiva, seguidos de espasmos inspiratórios), e posteriormente, para a fase de convalescência (com diminuição da tosse paroxística e início de complicações secundárias)

Bordetella parapertussis: causa uma forma de pertussis mais ligeira

Bordetella bronchiseptica: primariamente uma doença respiratória de animais, mas pode causar broncopneumonia no ser humano

Bordetella holmesii: constitui uma causa pouco comum de sepse

Brucella

Brucelose: sintomas iniciais não específicos de mal-estar, calafrios, hipersudorese, fadiga, mialgias, perda de peso, artralgias e febre; pode ser intermitente (febre ondulante); pode progredir para envolvimento sistêmico (sistema gastrointestinal, ossos e articulações, sistema respiratório, outros órgãos)

Brucella melitensis: doença sistêmica aguda, grave, frequentemente com complicações

Brucella abortus: doença ligeira com complicações supurativas

Brucella suis: doença crônica, supurativa e destrutiva

Brucella canis: doença ligeira com complicações supurativas

Cardiobacterium hominis

Endocardite subaguda: a mesma descrição que anteriormente

Francisella tularensis

Tularemia ulceroglandular: uma pápula dolorosa desenvolve-se no local de inoculação e progride para a ulceração; linfadenopatia localizada

Tularemia oculoglandular: após inoculação ocular (p.ex., esfregar um olho com um dedo contaminado), desenvolve-se uma conjuntivite dolorosa, com linfadenopatia regional

Tularemia pneumônica: desenvolvimento rápido de pneumonite com sinais de sepse após exposição a aerossóis contaminados; mortalidade elevada exceto se a situação for rapidamente diagnosticada e tratada

Legionella pneumophila

Febre de Pontiac: doença febril autolimitada com calafrios, mialgias, mal--estar e cefaleias, mas sem evidência de pneumonia

Doença dos legionários: pneumonia grave com início agudo de febre, calafrios, tosse não produtiva e cefaleias, com progressão para consolidação pulmonar multilobar e falência multiorgânica

Streptobacillus moniliformis

Febre da mordedura do rato: febre irregular, cefaleias, calafrios, mialgias e artralgias associadas à mordedura de roedores; faringite e vômitos associados à exposição da bactéria em alimentos ou na água

Os membros do gênero *Bartonella* são encontrados em uma variedade de reservatórios animais e estão presentes, tipicamente, sem evidência da doença. A disseminação da maioria das espécies de *Bartonella* a partir de animais colonizados para o ser humano ocorre quer por contato direto, quer por **insetos vetores** (p.ex., *B. bacilliformis* — **moscas da areia** (hematófagas); *B. quintana* — **piolhos**; *B. henselae* — **pulgas**). A maioria das infecções por *Bartonella* é caracterizada por febres recorrentes e/ou lesões angioproliferativas (cistos cheios de sangue).

O *B. bacilliformis*, o membro original do referido gênero, é responsável pela doença de Carrión, uma bacteriemia hemolítica aguda que consiste em um quadro de febre e anemia grave (febre de Oroya), seguido do desenvolvimento de

nódulos vasoproliferativos crônicos (**verruga peruana**, em inglês "*Peruvian wart*"). A doença encontra-se restrita às regiões montanhosas dos Andes do Peru, Equador e Colômbia, a área endêmica do vetor da mosca da areia, *Phlebotomus*. Depois da picada de uma mosca da areia infectada, as bactérias entram no sangue, multiplicam-se e penetram nos eritrócitos e células endoteliais. Esse processo aumenta a fragilidade das células infectadas e facilita a sua eliminação pelo sistema reticuloendotelial, o que leva a uma anemia aguda. Também é frequente a ocorrência de mialgia, artralgia e dor de cabeça. Esse estágio da doença termina com o desenvolvimento da imunidade humoral. No curso da doença crônica Carrión, aparecem, ao longo de 1 a 2 meses, nódulos cutâneos de 1 a 2 cm de tamanho, cheios de sangue em muitos casos ("angioproliferativos") e podem persistir por meses ou anos. A ligação entre as lesões cutâneas de verruga peruana e a febre de Oroya foi demonstrada por um estudante de medicina, Carrión, que se autoinfectou com aspirados de lesões cutâneas e morreu de febre Oroya. Esse ato de imprudência científica imortalizou-o e ilustra a elevada mortalidade associada a essa doença se não tratada, sendo, por isso, recomendado que as infecções por *B. bacilliformis* devem ser combatidas com cloranfenicol ou ciprofloxacina.

A *Bartonella quintana* foi originalmente descrita como o organismo causador da **febre das trincheiras** (também conhecida como "**febre dos 5 dias**"), uma doença prevalente durante a Primeira Guerra Mundial. A infecção pode variar de uma forma assintomática a uma doença grave e debilitante. Tipicamente, os pacientes apresentam cefaleia intensa, febre, fraqueza e dor nos ossos longos (em especial na tíbia). A febre pode ser recorrente em intervalos de 5 dias, daí o nome da doença. Embora a febre das trincheiras não cause a morte, a doença pode ser muito grave. Não é conhecido reservatório animal algum para essa doença; pelo contrário, a exposição a fezes contaminadas pelo **piolho do corpo humano** dissemina a doença de pessoa a pessoa. A *B. quintana* está associada à doença em pacientes imunocomprometidos, particularmente pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV): **febres recorrentes com bacteriemia** (Caso Clínico 29-1) e **angiomatose bacilar**. A bacteriemia é caracterizada por um início insidioso de mal-estar, dores no corpo, fadiga, perda de peso, dores de cabeça e febres recorrentes. Isso pode levar a endocardite, ou, com mais frequência, a doenças vasculares proliferativas da pele (angiomatose bacilar; Fig. 29-1), do tecido subcutâneo ou do osso. As lesões vasculares aparecem como vários nódulos cheios de sangue (semelhantes à verruga peruana). Tal como acontece com a febre das trincheiras, o vetor dessas doenças parece ser o piolho do corpo humano e, a doença encontra-se principalmente restrita aos indivíduos sem abrigo, nos quais a higiene pessoal é deficiente. O tratamento das infecções por *B. quintana* pressupõe, habitualmente, o uso da eritromicina, doxiciclina ou azitromicina.



Caso Clínico 29-1 Febre e Bacteriemia Causadas por Bartonella

Slater et al. (*N Engl J Med* 3323:1587-1593, 1990) descreveram o primeiro caso de infecção por *Bartonella henselae* em um paciente HIV positivo. Um homem de 31 anos, com infecção avançada por HIV, apresentou-se com febre alta, calafrios, sudorese e perda de peso. As hemoculturas foram negativas após 2 dias de incubação, e, mesmo após resposta inicial à terapêutica oral com antibiótico, a febre reapareceu 2 semanas depois. O paciente apresentava pancitopenia e tinha aumento no nível das enzimas hepáticas. A hepatomegalia foi a única anormalidade detectada por tomografia computadorizada. Todos os testes diagnósticos foram negativos até que, após 2 semanas de incubação, foram isolados bacilos Gram-negativos nas hemoculturas. Estudos posteriores caracterizaram a bactéria como um novo organismo, que foi denominado *B. henselae*. O paciente foi tratado com eritromicina parentérica, e apesar da febre recorrente, as culturas tornaram-se negativas. Esse paciente ilustra a suscetibilidade dos pacientes com HIV a infecções por esse organismo, bem como o início insidioso e o curso prolongado da doença.



FIGURA 29-1 Lesões cutâneas de angiomatose bacilar causadas por *Bartonella henselae*. (De Cohen J, Powderly WG: *Infectious diseases*, ed 2, StLouis, 2004, Mosby.)

A *B. henselae* também é responsável pela angiomatose bacilar; no entanto, atinge sobretudo a pele, os gânglios linfáticos, o fígado (**peliose hepática**) ou o baço (**peliose esplênica**). As razões para essa afinidade tecidular diferencial não são conhecidas. Também à semelhança da *B. quintana*, a *B. henselae* pode causar endocardite subaguda. Os reservatórios da *B. henselae* são os gatos e as suas pulgas. As bactérias habitam, de forma assintomática, a orofaringe do gato e podem causar

bacteriemia transitória, especialmente em gatos jovens ou selvagens. A *B. henselae* é responsável por outra doença adquirida após exposição a gatos (p.ex., arranhões, mordidas e contato com as fezes contaminadas de pulgas de gato): a **doença do arranhão do gato**. Normalmente, a doença do arranhão do gato é uma infecção benigna em crianças, caracterizada por **linfadenopatia regional crônica**, envolvendo os gânglios linfáticos que drenam o local de contato. Embora as infecções sejam, na sua maioria, autolimitadas, pode ocorrer disseminação para o fígado, baço, olhos ou sistema nervoso central. As bactérias podem ser detectadas nos tecidos dos nódulos linfáticos; contudo, a cultura é quase sempre negativa. O diagnóstico definitivo baseia-se na apresentação característica e na evidência sorológica de uma infecção recente. As culturas não são úteis, porque se encontram relativamente poucos organismos nos tecidos, como resultado da reação imunitária celular vigorosa em pacientes imunocompetentes. Em contraste, a *B. henselae* pode ser isolada a partir do sangue recolhido de pacientes imunocomprometidos com bacteriemia crônica, se as culturas forem incubadas durante um período igual ou superior a 4 semanas (Fig. 29-2).

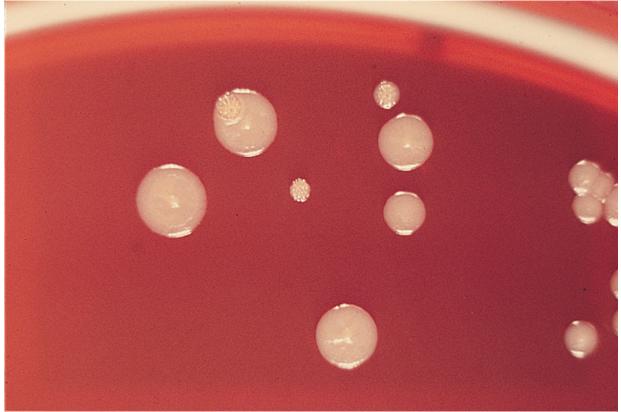


FIGURA 29-2 Crescimento de *Bartonella henselae* em placas com ágar-sangue; observe as duas morfologias típicas de colônias. (De Cohen J, Powderly WG: *Infectious diseases*, ed 2, St Louis, 2004, Mosby.)

A eficácia do tratamento da doença do arranhão do gato com antibióticos não foi demonstrada, embora a azitromicina esteja recomendada, se for decisão da instituição de terapêutica. O tratamento de outras infecções por *B. henselae* engloba o uso de eritromicina oral, doxiciclina ou azitromicina. As penicilinas resistentes à penicilinase, as cefalosporinas de primeira geração e a clindamicina não parecem ter atividade *in vitro* contra a *Bartonella*. A incidência de infecções por *Bartonella* em pacientes infectados pelo HIV tem diminuído nos últimos anos, porque esses pacientes são medicados com azitromicina ou claritromicina, de forma rotineira, para a prevenção de infecções por *Mycobacterium avium*.

Bordetella

Bordetella é um cocobacilo Gram-negativo, extremamente pequeno (0,2 a 0,5 × 1 μm) e estritamente aeróbio. Atualmente, são reconhecidas oito espécies, sendo quatro delas responsáveis pela doença humana (Quadro 29-1): Bordetella pertussis, o agente responsável pela coqueluche ou pertussis; Bordetella parapertussis, o agente responsável por uma forma mais ligeira de coqueluche; Bordetella bronchiseptica, responsável por uma doença respiratória em cães, suínos, animais de laboratório e, ocasionalmente, no ser humano; e Bordetella holmesii, uma causa não comum de sepse. As espécies de Bortedella são diferenciadas com base em suas características de crescimento, reatividade bioquímica e propriedades antigênicas. Apesar das diferenças fenotípicas, estudos genéticos têm mostrado que as quatro espécies patogênicas para os seres humanos se relacionam entre si de forma próxima ou constituem espécies idênticas, diferindo apenas na expressão dos genes de virulência.

A infecção por *B. pertussis* e o desenvolvimento de coqueluche requerem exposição ao organismo, fixação bacteriana às células epiteliais ciliadas do sistema respiratório, proliferação das bactérias e produção de danos localmente nos tecidos e toxicidade sistêmica. A ligação dos organismos às células epiteliais ciliadas é mediada por proteínas

adesinas: **pertactina**, **hemaglutinina** filamentosa e fímbrias. Proteínas semelhantes também são encontradas em *B. parapertussis* e *B. bronchiseptica*. O dano tecidular localizado é mediado pela **toxina dermonecrótica** (produz isquemia localizada no modelo com camundongos) e **citotoxina traqueal** (inibe o movimento dos cílios, interrompendo os mecanismos da eliminação normal na árvore respiratória, que levam à tosse característica da coqueluche). A toxicidade sistêmica é produzida principalmente pela **toxina pertussis**. Essa toxina inativa a proteína que controla a atividade da adenilato ciclase, levando a um aumento dos níveis de adenosina monofosfato cíclica (AMPc) e a um aumento subsequente dassecreções respiratórias e da produção de muco, característica da fase paroxística da coqueluche.

A *pertussis* (tosse convulsa ou coqueluche) é uma **doença humana** sem qualquer outro reservatório animal ou ambiental conhecido. Embora a incidência da *pertussis*, juntamente com a sua morbidade e mortalidade, tenha reduzido consideravelmente após a implementação de vacinas em 1949, a doença ainda é endêmica em todo o mundo com uma estimativa de 16 milhões de infecções e 200.000 mortes por ano, sobretudo em crianças não vacinadas. A incidência da doença notificada nos Estados Unidos aumentou de forma constante ao longo dos últimos 25 anos, com mais de 48.000 casos notificados em 2012; contudo, esta é uma subestimação da verdadeira incidência da doença. Historicamente, a coqueluche foi considerada uma doença pediátrica, mas nos dias atuais uma proporção significativa das infecções é encontrada em **adolescentes e adultos** (Caso Clínico 29-2). O reconhecimento de formas mais leves da doença, em crianças mais velhas e adultos, e o uso de testes de diagnóstico aperfeiçoados têm contribuído para o aumento do número de notificações da doença.



Caso Clínico 29-2 Surto de Coqueluche em Profissionais de Saúde

Pascual et al. (*Infect Control Hosp Epidemiol* 27:546-552, 2006) relataram um surto de coqueluche entre os trabalhadores de um hospital. O caso-índice, referente a uma enfermeira anestesista, apresentou-se agudamente, com paroxismos de tosse, seguidos de vômitos e episódios de apneia que levavam à perda de consciência. O pessoal do serviço cirúrgico, os pacientes expostos e membros da família foram examinados, através de culturas, teste de reação em cadeia da polimerase e exames sorológicos obtidos de pacientes com sintomas respiratórios. Doze (23%) profissionais de saúde e 0 de 146 pacientes tiveram o quadro clínico de coqueluche. A ausência da doença nos pacientes foi atribuída ao uso de máscara, à etiqueta de tosse e à limitação dos contatos face a face. Esse surto destaca a suscetibilidade dos adultos à infecção e a natureza altamente infecciosa da *Bordetella pertussis*.

O início da infecção ocorre quando os aerossóis infecciosos são inalados e as bactérias se ligam e proliferam em células epiteliais ciliadas. Após um período de incubação de 7 a 10 dias, a apresentação clássica da coqueluche prossegue através de três fases (Fig. 29-3). A primeira fase, a fase catarral, assemelha-se a um resfriado comum, com coriza serosa, espirros, mal-estar, anorexia e febre baixa. Visto que o número de pico de bactérias é produzido durante esta fase, e a causa da doença ainda não é conhecida, os pacientes da fase catarral constituem o maior risco para os seus contatos. Após 1 a 2 semanas, começa a fase paroxística. Durante esse tempo, as células epiteliais ciliadas são extrudidas a partir do trato respiratório, e a eliminação do muco é prejudicada. Essa fase é caracterizada pelos clássicos paroxismos da tosse convulsa (i.e., uma série de acessos de tosse repetitivos, seguido de um ruído inspiratório). A produção de muco no trato respiratório é comum e parcialmente responsável por causar restrição das vias aéreas. Os paroxismos terminam frequentemente com vômitos e cansaço extremo. Durante essa fase denota-se uma linfocitose marcada. Os pacientes afetados podem vivenciar até 40 a 50 por paroxismos diários durante o auge da doença. Após 2 a 4 semanas, a doença passa para a fase de convalescença; nessa fase, os paroxismos diminuem em número e gravidade, mas podem ocorrer complicações secundárias. Hoje em dia, considera-se que essa apresentação clássica da coqueluche poderá não ser observada em pacientes com imunidade parcial ou em adultos. Tais pacientes poderão ter uma história de tosse persistente crônica sem ruídos nem vômitos. Tendo em vista que esta apresentação clínica não é distintiva, é necessário realizar testes de diagnóstico adequados para Bordetella, bem como para outros organismos patogênicos respiratórios bacterianos (p.ex., Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae, Legionella pneumophila) e virais.

	Incubação	Catarral	Paroxística	Convalescença
Duração	7–10 dias	1–2 semanas	2-4 semanas	3–4 semanas (ou superior)
Sintomas	Nenhum	Rinorreia, mal-estar, febre, espirros, anorexia	Tosse persistente com espasmos, vômitos, leucocitose	Diminuição dos acessos de tosse paroxística, desenvolvimento de complicações secundárias (pneumonia, convulsões, encefalopatia)
Cultura bacterio- lógica				

FIGURA 29-3 Apresentação clínica da doença por Bordetella pertussis.

O diagnóstico laboratorial das infecções por *B. pertussis* tem mudado nos últimos anos. As bactérias são extremamente sensíveis à secagem e não sobrevivem a menos que sejam tomadas precauções durante a coleta e o transporte das amostras para o laboratório. Embora as espécies *Bordetella* possuam necessidades nutricionais simples, algumas espécies são altamente **suscetíveis a substâncias tóxicas e metabólitos** presentes nos meios de laboratório comuns. Essas espécies (em particular *B. pertussis*) requerem meios suplementados com carvão vegetal, amido, sangue, ou albumina para absorver essas substâncias tóxicas. As espécies mais exigentes também crescem lentamente em cultura, e todas elas requerem meios de cultura preparados na hora. Mesmo sob circunstâncias ideais, a recolha de *B. pertussis* nas culturas é difícil. Por essas razões, têm-se desenvolvido uma série de testes de amplificação de ácidos nucleicos, tendo como alvo uma variedade de genes. As características do desempenho desses ensaios (p.ex., sensibilidade, especificidade) são superiores aos exames microscópico e cultural. É difícil interpretar os resultados dos testes sorológicos, porque as técnicas de microscopia e de cultura apresentam-se como técnicas com relativa baixa sensibilidade. Os testes de ensaio imunossorvente (ELISA, *enzymelinked immunosorbent assay*) ligados a enzimas foram desenvolvidos para detectar anticorpos contra a toxina *pertussis*, hemaglutinina filamentosa, pertactina e fímbrias.

O tratamento para a coqueluche é principalmente de suporte, com a supervisão da equipe de enfermagem durante as fases paroxística e de convalescença da doença. Os antibióticos podem melhorar a evolução clínica e reduzir a infecciosidade, particularmente durante as fases iniciais da doença, mas a convalescença depende, sobretudo, da rapidez e do grau de regeneração da camada de células epiteliais ciliadas. Os **macrolídeos** (i.e., eritromicina, azitromicina, claritromicina) são eficazes na erradicação dos organismos; no entanto, esse efeito tem valor limitado, porque a doença não é habitualmente detectada durante o pico de contágio. A azitromicina e claritromicina são mais bem toleradas e constituem os macrolídeos preferidos. O sulfametoxazol-trimetoprim ou as fluoroquinolonas podem ser utilizados em pacientes não tolerantes aos macrolídeos.

Duas vacinas acelulares (uma para crianças, outra para adultos) administradas em combinação com vacinas contra o tétano e difteria encontram-se, atualmente, aprovadas nos Estados Unidos. Ambas as vacinas contêm toxina pertussis inativada, hemaglutinina filamentosa e pertactina. A vacina pediátrica é administrada a crianças nas idades de 2, 4 e 6 meses e entre os 15 a 18 meses, sendo a quinta dose administrada entre os 4 e 6 anos. A recomendação atual para a vacinação no adulto é a administração entre os 11 e 12 anos e depois novamente entre os 19 e 65 anos. Devido ao alto índice de contágio da coqueluche em uma população suscetível e à não detecção das infecções em membros da família de um paciente sintomático poderem perpetuar a doença em uma comunidade, a azitromicina tem sido utilizada para profilaxia em determinadas situações.

Outras Espécies de Bordetella

B. parapertussis é responsável por 10% a 20% dos casos leves de coqueluche que ocorrem por ano nos Estados Unidos. *B. bronchiseptica* provoca principalmente doença respiratória em animais, mas tem sido associada à colonização do trato respiratório humano e à doença broncopulmonar. Pesquisadores do Centers for Disease Control and Prevention (CDC), em Atlanta, relataram que *B. holmesii* está sobretudo associada a septicemia.

Brucella

Estudos moleculares do gênero *Brucella* demonstram uma relação estreita entre as cepas e são consistentes com uma única espécie; entretanto, o gênero é subdividido em 10 espécies, com 4 delas mais frequentemente associadas a doenças no ser humano: *Brucella abortus, Brucella melitensis, Brucella suis* e *Brucella canis* (Quadro 29-1). As doenças causadas por membros desse gênero são caracterizadas por uma série de nomes baseados nos microbiologistas que isolaram e descreveram os organismos pela primeira vez (p.ex., Sir David Bruce [brucelose], Bernhard Bang [doença de Bang]), os seus quadros clínicos (febre ondulante) e os locais dos surtos detectados (p.ex., febre de Malta, febre remitente mediterrânica, febre do rochedo de Gibraltar, febre do condado de Constantinopla, febre de Creta). O termo utilizado com mais frequência é *brucelose*.

Os organismos da *Brucellae* são cocobacilos Gram-negativos, pequenos (0,5 × 0,6 a 1,5 µm), sem motilidade, não encapsulados. Eles crescem lentamente em cultura (levando uma semana ou mais) e, em geral, requerem meios de crescimento complexos; são estritamente aeróbios, com algumas cepas necessitando de dióxido de carbono suplementar para o seu crescimento; e não fermenta, hidratos de carbono.

As colônias podem assumir quer formas lisas (translúcida, homogênea), quer formas rugosas (opaca, granular ou viscosa), conforme determinado pelo antígeno O do lipopolissacarídeo da parede celular (LPS). Os antissoros para uma forma (p.ex., lisa) não reagem de forma cruzada com a outra (p.ex., rugosa).

A *Brucella* não produz exotoxina detectável, e a endotoxina é menos tóxica que as produzidas por outros bacilos Gramnegativos. A reversão de estirpes lisas para uma morfologia rugosa está associada a uma virulência muito reduzida, de modo que a cadeia O dos LPSs lisos constitui um marcador importante para a virulência. A *Brucella* é também um **parasita intracelular** do **sistema reticuloendotelial**. Após a exposição inicial, os organismos são fagocitados por macrófagos e monócitos, onde as bactérias sobrevivem e se replicam; as bactérias fagocitadas são transportadas para o baço, fígado, medula óssea, gânglios linfáticos e rins. As bactérias segregam proteínas que induzem a formação de granulomas nesses órgãos, e ocorrem alterações destrutivas nestes e em outros tecidos em pacientes com doença avançada.

As infecções por *Brucella* possuem **distribuição mundial**, sendo a doença endêmica mais comum em países onde não existem programas de vacinação de animais domésticos, como a América Latina, África, bacia do Mediterrâneo, Médio Oriente e Ásia Ocidental. Mais de 500.000 casos documentados são reportados anualmente em todo o mundo. Em contraste, a incidência da doença nos Estados Unidos é muito mais baixa (79 infecções reportadas em 2011). O maior número de casos notificados nos EUA localiza-se na **Califórnia** e no **Texas**, e a maioria dessas infecções ocorrem em indivíduos residentes do México ou viajantes para aquele país. O pessoal de laboratório também se encontra em risco significativo para contrair a infecção, através do contato direto ou da inalação do organismo. A doença no gado, suínos, ovinos e caprinos, nos Estados Unidos, foi eficazmente eliminada através da destruição dos animais infectados e da vacinação dos animais saudáveis.

A brucelose nos seres humanos pode ser contraída por contato direto com o organismo (p.ex., exposição laboratorial), ingestão (p.ex., o consumo de produtos alimentares contaminados) ou inalação. Particularmente preocupante é o uso potencial de *Brucella* como arma biológica, no qual a exposição seria, muito provavelmente, por inalação.

A *Brucella* causa doença ligeira ou assintomática no hospedeiro natural: *B. abortus* infecta o gado e o bisonte americano; *B. melitensis*, cabras e ovelhas; *B. suis*, suínos, renas e caribus; e *B. canis*, cães, raposas e coiotes. O organismo possui uma predileção pela infecção de órgãos ricos em **eritritol**, um açúcar metabolizado por muitas estirpes de *Brucella* em detrimento da glicose. Os tecidos animais (mas não humanos), incluindo mama, útero, placenta e epidídimo, são ricos em eritritol. Assim, os organismos localizam-se nesses tecidos, em reservatórios não humanos, e podem causar esterilidade, abortos ou um estado de portador crônico assintomático ao longo da vida. Os organismos *Brucellae* estão presentes em número elevado em produtos do leite, urina e do nascimento. A doença humana nos Estados Unidos é mais frequentemente causada por *B. melitensis* e é consequência, principalmente, do consumo de leite e de outros **produtos lácteos** não pasteurizados e contaminados.

Doenças Clínicas

O espectro da doença da **brucelose** (Caso Clínico 29-3; ver Quadro 29-1) depende do organismo infectante. *B. abortus* e *B. canis* tendem a produzir doença ligeira com complicações supurativas raras. Em contraste, *B. suis* provoca a formação de lesões destrutivas e possui um curso prolongado. *B. melitensis* também causa doença grave com uma elevada incidência de complicações graves, pois os organismos podem se multiplicar atingindo concentrações elevadas nas células fagocíticas.



Caso Clínico 29-3 Brucelose

Lee e Fung (*Hong Kong Med J* 11:403-406, 2005) descreveram um caso de uma mulher de 34 anos que desenvolveu brucelose causada por *Brucella melitensis*. A mulher apresentou-se com cefaleias recorrentes, febre e mal--estar, que se

desenvolveram após a manipulação de placenta de cabra na China. As hemoculturas foram positivas para *B. melitensis* após incubação prolongada. Ela foi tratada durante 6 semanas com doxiciclina e rifampicina e teve uma resposta bem-sucedida. O caso corresponde a uma descrição clássica de exposição aos tecidos contaminados com concentrações altas de eritritol, um quadro clínico com febres recorrentes e cefaleias e resposta à combinação de doxiciclina e rifampicina.

A doença aguda desenvolve-se em cerca de metade dos pacientes infectados com *Brucella*, com os primeiros sintomas surgindo, tipicamente, cerca de 1 a 3 semanas após a exposição. Os sintomas iniciais são inespecíficos e consistem em malestar, calafrios, suores, fadiga, fraqueza, mialgias, perda de peso, artralgias e tosse não produtiva. Quase todos os pacientes apresentam febre, e essa pode ser intermitente em pacientes não tratados, daí a designação de **febre ondulante**. Os pacientes com doença avançada podem ter sintomas do trato gastrointestinal, lesões osteolíticas ou derrames articulares, sintomas do trato respiratório e, menos frequentemente, manifestações cutâneas, neurológicas ou cardiovasculares. As infecções crônicas podem também desenvolver-se em pacientes tratados de forma inadequada, com desenvolvimento de sintomas dentro de 3 a 6 meses após a interrupção da antibioticoterapia. As recaídas estão associadas a um foco infeccioso persistente (p.ex., no osso, baço, fígado) e não com o desenvolvimento de resistência aos antibióticos.

Para o diagnóstico laboratorial da brucelose, deve-se recolher várias amostras de sangue para exame cultural e sorológico. Culturas de medula óssea e de tecido infectado também podem ser úteis. Para garantir a segurança do manuseamento da amostra, deve-se notificar o laboratório caso haja suspeita de brucelose. Os organismos de *Brucella* são facilmente corados utilizando técnicas convencionais, mas a sua localização intracelular e o seu tamanho reduzido dificultam a detecção em amostras clínicas. Os organismos crescem lentamente em cultura, requerendo ágar de sangue enriquecido e incubação prolongada (período igual ou superior a 3 dias). **As hemoculturas devem ser incubadas durante 2 semanas** antes de serem consideradas negativas. A identificação preliminar de *Brucella* baseia-se na morfologia microscópica e colonial do isolado das culturas, nas reações da oxidase e urease positivas e na reatividade com anticorpos específicos. A identificação ao nível do gênero também pode ser realizada por sequenciação do gene do ácido ribonucleico ribossômico (RNAr) 16S. A brucelose subclínica e muitos casos de doença aguda e crônica são identificados por uma resposta específica de anticorpos no paciente infectado. Os anticorpos são detectados em praticamente todos os pacientes e podem persistir por muitos meses ou anos; assim, é necessário um aumento significativo do título de anticorpos para fornecer evidência sorológica definitiva da doença atual. Um **diagnóstico de presunção** pode ser feito se houver um aumento de 4 vezes do título ou uma titulação única for igual ou superior a 1:160.

As tetraciclinas, sendo a **doxiciclina** o agente preferido, são geralmente ativas contra a maioria das cepas de *Brucella*; no entanto, dado que esta é um medicamento bacteriostático, a recaída é comum após uma resposta inicial bem-sucedida. Atualmente, a Organização Mundial de Saúde recomenda a combinação de **doxicilina com rifampicina**. Como as tetraciclinas são tóxicas para as crianças e fetos, a doxiciclina deverá ser substituída por sulfametoxazol-trimetoprim para mulheres grávidas e crianças com idade inferior a 8 anos. O tratamento deve ser continuado por 6 ou mais semanas para que obtenha êxito. As fluoroquinolonas, macrolídeos, penicilinas e cefalosporinas ou são ineficazes ou possuem atividade imprevisível. A recidiva da doença é causada por terapêutica inadequada e não pelo desenvolvimento de resistência aos antibióticos.

O controle da brucelose humana é realizado através do controle da doença nos rebanhos, como foi demonstrado nos Estados Unidos. Isso requer a identificação sistemática (por teste sorológico), a eliminação de rebanhos infectados e a vacinação dos animais (atualmente, com a estirpe rugosa da estirpe *B. abortus* RB51). Evitar produtos lácteos não pasteurizados, observar os procedimentos clínicos de segurança adequados e usar vestuário de proteção por parte dos trabalhadores de matadouros são outras formas de prevenção da brucelose. As vacinas vivas atenuadas de *B. abortus* e *B. melitensis* têm sido usadas com sucesso para prevenir as infecções nos rebanhos. Não foram desenvolvidas vacinas contra *B. suis* ou *B. canis*, e as existentes não podem ser usadas em seres humanos, porque elas produzem doença sintomática. A ausência de uma vacina humana eficaz é preocupante, uma vez que a *Brucella* poderia ser usada como um agente de bioterrorismo.

Cardiobacterium

A denominação de *Cardiobacterium hominis* deve-se à predileção dessa bactéria em causar endocardite em humanos (Quadro 29-1). Essas bactérias são bacilos Gram-negativos ou Gram-variáveis pleomórficos, sem motilidade, anaeróbios facultativos e caracteristicamente pequenos (1 × 1 a 2 μm). As bactérias são fermentativas, com teste de oxidase positivo e teste da catalase negativo. O *C. hominis* está presente no trato respiratório superior da maioria das pessoas saudáveis.

A **endocardite** é a doença humana primária causada por *C. hominis* e pela espécie relacionada *Cardiobacterium* valvarum (Caso Clínico 29-4). Muitas infecções provavelmente não são notificadas ou diagnosticadas devido à baixa virulência desse organismo e ao seu lento crescimento *in vitro*. A maioria dos pacientes com endocardite por *Cardiobacterium* possui uma **doença cardíaca preexistente** ou uma história de doença oral ou antecedentes de um procedimento dentário antes do desenvolvimento de sintomas clínicos. Os organismos possuem a capacidade de atingir a corrente sanguínea a partir da orofaringe, de aderir ao tecido cardíaco danificado e, em seguida, de se multiplicar de maneira lenta. O curso da doença é insidioso e subagudo; os pacientes apresentam, tipicamente, sintomas (p.ex., fadiga,

mal--estar e febre baixa) durante meses antes de procurarem cuidados médicos. As complicações são raras e a recuperação completa é comum após terapêutica apropriada com antibióticos.



Caso Clínico 29-4 Endocardite por Cardiobacterium

Hoover et al. (*Ann Intern Med* 142:229-230, 2005) descreveram o primeiro paciente com infecção por *Cardiobacterium valvarum* (uma espécie do gênero *Cardiobacterium* recentemente descrita). O paciente era um homem de 46 anos que, ao longo de 1 mês, desenvolveu anorexia e fadiga. Os sintomas desenvolveram-se 2 semanas após uma extração dentária. O seu exame físico revelou fadiga, edema dos membros inferiores e um sopro cardíaco novo. Foram documentados derrames pleurais bilaterais na radiografia torácica. Todas as hemoculturas colhidas ao longo de um período de 24 horas foram positivas para um bacilo Gram-negativo pleomórfico, que foi posteriormente identificado como *C. valvarum*. A abordagem do paciente envolveu a substituição da válvula aórtica com uma válvula prostética e 4 semanas de terapêutica com ceftriaxona. As visitas de seguimento do paciente documentaram a sua recuperação completa. Este caso ilustra a apresentação subaguda e o resultado, em geral, de sucesso para pacientes com endocardite por *Cardiobacterium*. Uma particularidade única neste caso é que o paciente não possuía história prévia de doença cardíaca, embora seja provável que ela estivesse presente.

O isolamento de *C. hominis* em hemoculturas confirma o diagnóstico de endocardite. O organismo cresce lentamente em cultura, necessitando 1 semana ou mais para a detecção do seu crescimento. O organismo exige um aumento de dióxido de carbono e da umidade para crescer em meios de ágar, com o aparecimento de colônias em forma de ponto, com 1 mm de tamanho, vistas em placas de ágar-sangue ou ágar-chocolate, após 2 dias de incubação. O organismo não cresce no ágar MacConkey ou em outros meios seletivos usados com frequência para bacilos Gram-negativos. O *C. hominis* pode ser facilmente identificado a partir das suas propriedades de crescimento, morfologia microscópica e reatividade em testes bioquímicos.

O *C. hominis* é suscetível a muitos antibióticos e a maioria das infecções são tratadas com sucesso com **penicilina ou ampicilina** por 2 a 6 semanas, embora tenham sido relatadas cepas resistentes à penicilina. A prevenção da endocardite por *C. hominis* em indivíduos com doença cardíaca preexistente é efetuada pela manutenção de uma boa higiene bucal e uso de profilaxia antibiótica quando da realização de procedimentos dentários. O uso de penicilina de ação prolongada constitui uma profilaxia eficaz. A eritromicina não deve ser utilizada porque o *C. hominis*, geralmente, apresenta resistência a esse antibiótico.

Francisella

A Francisella é um patógeno zoonótico importante que pode causar doença humana significativa. Três espécies do gênero Francisella estão associadas a doenças humanas: Francisella tularensis, Francisella novicida e Francisella philomiragia. A F. tularensis (Quadro 29-1) é o agente causador da tularemia (também denominada febre glandular, febre do coelho, febre do carrapato e febre do moscardo) em animais e humanos. A F. tularensis subdivide-se em três subespécies com base nas suas propriedades bioquímicas. As subespécies tularensis (tipo A) e holarctica (tipo B) são as mais importantes, enquanto a F. tularensis subespécie mediaasiatica raramente está associada a doença humana. A F. novicida e F. philomiragia são patógenos oportunistas incomuns, que têm uma predileção para pacientes com deficiências imunológicas (i.e., doença granulomatosa crônica, doenças mieloproliferativas).

A *F. tularensis* é um cocobacilo Gram-negativo, **muito pequeno** (0,2 × 0,2 a 0,7 μm) e de coloração fraca (Fig. 29-4). O organismo não possui motilidade, tem uma cápsula de lípidos fina e necessidades de crescimento exigentes (i.e., a maioria das estirpes **necessita de cisteína** para o crescimento). É **estritamente aeróbio** e requer um período igual ou superior a 3 dias para o crescimento ser detectado na cultura.

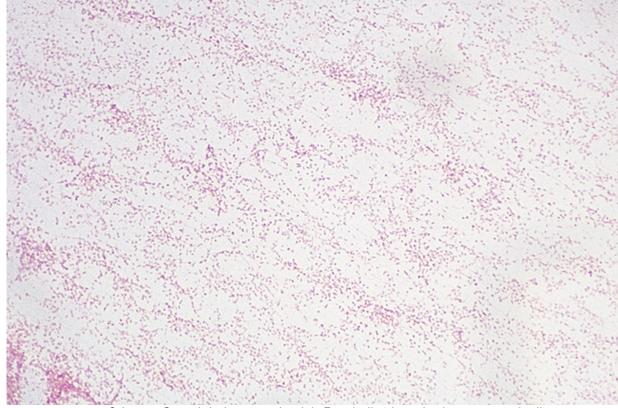


FIGURA 29-4 Coloração Gram do isolamento cultural de *Francisella tularensis*; observe os cocobacilos, semelhantes a pontos, de dimensões muito reduzidas.

A *F. tularensis* é um **patógeno intracelular** que pode replicar-se em macrófagos, neutrófilos, células epiteliais e células endoteliais. O organismo inibe a fusão do fagossoma-lisossoma através da secreção de proteínas que facilitam a fuga das bactérias do fagossoma e sua subsequente replicação no citosol. As estirpes patogênicas possuem uma **cápsula rica em polissacarídeos**, antifagocítica, e a perda da cápsula está associada à diminuição da virulência. A cápsula protege as bactérias da morte mediada pelo complemento durante a fase de bacteriemia da doença. Esse organismo possui uma endotoxina, mas esta é consideravelmente menos ativa que a endotoxina encontrada em outros bacilos Gram-negativos.

Uma resposta imunitária inata, forte, com produção de interferon (IFN)-γ e fator de necrose tumoral é importante para controlar a replicação bacteriana em macrófagos na fase inicial da infecção. A imunidade por células T específicas é necessária para a ativação dos macrófagos para a morte intracelular nas fases tardias da doença. A imunidade mediada por células B é menos significativa para a eliminação desse organismo patogênico intracelular facultativo.

A F. tularensis subsp. tularensis (tipo A) encontra-se restrita à América do Norte, enquanto subsp. holarctica (tipo B) é endêmica em todo o Hemisfério Norte. As cepas de tipo A subdividem-se ainda em tipo A-oeste, que predomina na região árida que se estende das Montanhas Rochosas até às montanhas da Serra Nevada; e tipo A-leste, que ocorre nos estados centrais do sudeste do Arkansas, Missouri e Oklahoma e ao longo da Costa do Atlântico. As estirpes do tipo B agrupam-se ao longo dos principais rios, como no Alto Mississippi, e em áreas com alta pluviosidade, como a área do Noroeste do Pacífico. A distribuição dessas estirpes é importante, porque as características epidemiológicas das doenças individuais são distintas, e o curso clínico da doença é significativamente diferente. A distribuição geográfica das estirpes do tipo A-oeste, tipo A-leste e do tipo B é definida pela distribuição dos reservatórios naturais e dos vetores de F. tularensis. Mais de 200 espécies de mamíferos, bem como aves e artrópodes hematófagos, são naturalmente infectados com F. tularensis. As infecções do tipo A estão com mais frequência associadas à exposição a lagomorfos (coelhos, lebres) e gatos; as infecções do tipo B estão associadas a roedores e gatos, mas não lagomorfos. As infecções causadas por artrópodes que mordem (p.ex., carrapatos de carapaça dura [Ixodes, Dermacentor, Amblyomma spp.], moscardos) são mais comuns com as estirpes do tipo A que com estirpes do tipo B. A disseminação das estirpes de tipo A-leste a partir dos estados centrais do sudeste para os estados da Costa Atlântica ocorreu quando importaram-se coelhos infectados dos estados centrais para os clubes de caça da Costa Leste nas décadas de 1920 e 1930. As infecções do tipo A-leste são mais frequentemente associadas a doença disseminada e a uma alta taxa de mortalidade, quando comparadas com a doença causada por estirpes do tipo A-oeste; o curso da doença causada por estirpes de tipo B é de gravidade intermédia.

A incidência reportada da doença é baixa. Em 2012, foram reportados 149 casos nos Estados Unidos; no entanto, o número real de infecções é suscetível de ser muito superior, pois a tularemia é frequentemente insuspeitada e difícil de confirmar por testes laboratoriais. A maioria das infecções ocorre durante o verão (quando a exposição a carrapatos infectados é maior). A incidência da doença aumenta dramaticamente quando um inverno relativamente quente é seguido de um verão chuvoso, promovendo a proliferação da população dos carrapatos. Os indivíduos com maior risco de contrair a infecção são caçadores, pessoal de laboratório e aqueles expostos a carrapatos e outros artrópodes que mordem. Em áreas

onde o organismo é endêmico, diz-se que se um coelho se mover de forma tão lenta que possa ser atingido por um disparo de caçador ou capturado por um animal doméstico, o coelho poderá estar infectado (Caso Clínico 29-5).



Caso Clínico 29-5 Tularemia Associada ao Gato

Capellan e Fong (Clin Infect Dis 16:472-475, 1993) descreveram o caso de um homem de 63 anos que desenvolveu tularemia ulceroglandular, complicada por uma pneumonia, após mordedura de um gato. Inicialmente, o paciente apresentou dor e edema no seu polegar, 5 dias após a mordida. Foi-lhe prescrita penicilina oral, mas o estado clínico do paciente piorou com aumento da dor, edema e eritema no local da ferida, e sinais sistêmicos (febre, mal-estar, vômitos). Efetuou-se a incisão da ferida, mas nenhum abcesso foi encontrado; a cultura da ferida foi positiva, tendo sido documentado um crescimento ligeiro de estafilococos coagulase-negativos. Foi-lhe prescrita penicilina intravenosa, mas o estado do paciente continuou a deteriorar-se, com o desenvolvimento de linfadenopatia axilar dolorosa e sintomas pulmonares. A radiografia torácica revelou infiltrados pneumônicos no lobo médio pulmonar direito e nos lobos inferiores pulmonares. A terapêutica do paciente foi alterada para clindamicina e gentamicina, tendo-se seguido uma defervescência e melhoria do estado clínico. Após 3 dias de incubação, foram observadas colônias pequenas de cocobacilos Gram-negativos, de fraca coloração, na cultura da ferida original. O organismo foi encaminhado para um laboratório nacional de referência, onde foi identificado como Francisella tularensis. A colheita de uma história mais completa revelou que o gato do paciente vivia ao ar livre e alimentava-se de roedores selvagens. Este caso ilustra a dificuldade em fazer o diagnóstico de tularemia e a falta de capacidade de resposta das penicilinas.

A doença causada por *F. tularensis* subdivide-se em várias formas, com base na apresentação clínica: doença **ulceroglandular** (úlcera cutânea e linfonodos inchados), **oculoglandular** (envolvimento ocular e linfonodos cervicais inchados), **glandular** (primariamente linfonodos inchados sem outros sintomas localizados), **tifoide** (sinais sistêmicos de sepse), **pneumônica** (sintomas pulmonares), e doenças **orofaríngea** e **gastrointestinal** após ingestão de *F. tularensis*. Variações dessas apresentações também são comuns (p.ex., a tularemia pneumônica apresenta, tipicamente, sinais sistêmicos de sepse).

A tularemia ulceroglandular é a manifestação mais comum. A lesão cutânea, que começa como uma pápula dolorosa, desenvolve-se no local da mordida do carrapato ou da inoculação direta do organismo na pele (p.ex., um acidente de laboratório). A pápula ulcera posteriormente e possui um centro necrótico e uma borda elevada. Presentes de modo típico, estão também linfadenopatia localizada e bacteriemia (embora a bacteriemia possa ser difícil de documentar).

A tularemia oculoglandular (Fig. 29-5) é uma forma específica da doença e resulta da contaminação direta do olho. O organismo pode ser introduzido nos olhos, por exemplo, por dedos contaminados ou através de exposição à água ou aerossóis. Os pacientes afetados apresentam uma conjuntivite dolorosa e linfadenopatia regional.



FIGURA 29-5 Paciente com tularemia oculoglandular (observe o edema ao lado da orelha).

A tularemia pneumônica (Fig. 29-6) resulta da inalação de aerossóis infecciosos e está associada a alta morbidade e mortalidade, a menos que o organismo seja isolado rapidamente nas hemoculturas (em geral, é difícil de detectar o organismo em culturas de secreções respiratórias). Também existe a preocupação de que a *F. tularensis* possa ser usada como arma biológica. Como tal, a criação de um aerossol infeccioso seria o método mais provável de dispersão.

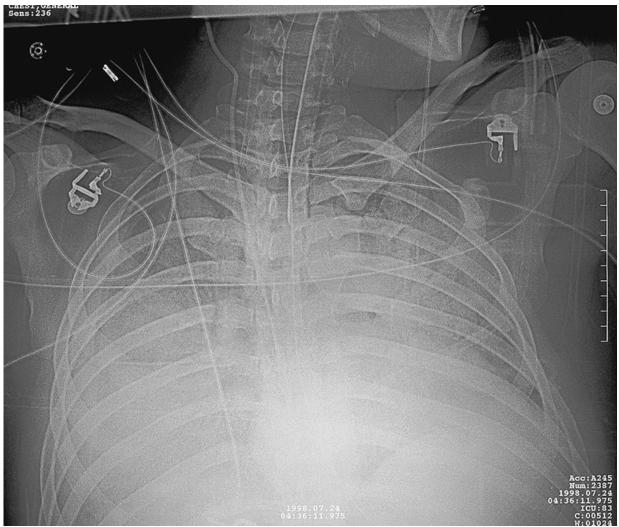


FIGURA 29-6 Radiografia torácica de pacientes com tularemia pulmonar.

A coleta e processamento de amostras para o isolamento de *F. tularensis* são perigosos, quer para o médico, quer para o técnico de laboratório. O organismo, em virtude do seu tamanho reduzido, pode penetrar através da pele hígida e das membranas mucosas durante a coleta da amostra, ou pode ser inalado se forem produzidos aerossóis (uma preocupação específica durante o processamento das amostras no laboratório). Apesar de ser rara a tularemia, as infecções adquiridas em laboratório são desproporcionalmente comuns. Deve-se usar luvas durante a recolha da amostra (p.ex., a aspiração de uma úlcera ou de um gânglio linfático), e todos os trabalhos de laboratório (quer o processamento inicial, quer o teste de identificação) devem ser realizados em uma câmara de segurança biológica.

A detecção de F. tularensis em aspirados com coloração Gram a partir de gânglios linfáticos ou úlceras infectadas raramente tem sucesso, pois o organismo é extremamente pequeno e apresenta coloração fraca (Fig. 29-4). Os ensaios baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) não se encontram amplamente disponíveis hoje em dia, embora isso possa alterar-se com o aumento de interesse no desenvolvimento de testes de diagnóstico para esse organismo, em caso de um ataque de bioterrorismo. Admite-se que a F. tularensis não pode ser isolada de forma fidedigna em meios laboratoriais comuns, uma vez que o organismo necessita de substâncias contendo sulfidrilo (p.ex., cisteína) para o seu crescimento. Todavia, F. tularensis pode crescer em ágar-chocolate ou ágar extrato de levedura-carvão (BCYE), meios suplementados com cisteína, que são usados na maioria dos laboratórios. Se existir suspeita de infecção por F. tularensis, o laboratório deverá ser notificado, visto que a F. tularensis apresenta um crescimento lento e o organismo pode não ser detectado se as culturas não forem incubadas por um período prolongado. Além disso, como esse organismo é altamente infeccioso, são necessários cuidados especiais para a realização dos testes microbiológicos. Em geral, as hemoculturas são negativas para o organismo, a menos que elas sejam incubadas durante um período igual ou superior a uma semana. As culturas de amostras respiratórias serão positivas se forem usados meios seletivos apropriados para suprimir as bactérias de crescimento mais rápido, provenientes do trato respiratório superior. A F. tularensis também cresce em meios seletivos utilizados para Legionella (p.ex., ágar BCYE). O material aspirado de gânglios linfáticos ou de seios de drenagem é, geralmente, positivo se as culturas forem incubadas durante um período igual ou superior a 3 dias.

A identificação preliminar de *F. tularensis* baseia-se no crescimento lento de cocobacilos Gram-negativos de dimensões muito reduzidas em ágar-chocolate, mas não em ágar-sangue (ágar-sangue não é suplementado com cisteína). A identificação é confirmada pela demonstração da reatividade das bactérias com antissoro específico (i.e., a aglutinação do organismo com anti-*Francisella*).

A tularemia é diagnosticada, na maioria dos pacientes, através da detecção de um aumento igual ou superior a 4 vezes do título de anticorpos durante a doença ou de uma titulação única igual ou superior a 1:160. No entanto, os anticorpos (incluindo as imunoglobulinas [Ig]G, IgM e IgA) podem persistir durante muitos anos, tornando difícil a distinção entre doença atual e doença passada.

A **gentamicina** é considerada o antibiótico de eleição. A doxiciclina e a ciprofloxacina podem ser utilizadas para tratar infecções ligeiras. As estirpes de F. tularensis produzem β -lactamase, fato que torna ineficaz a ação das penicilinas e cefalosporinas. A taxa de mortalidade é inferior a 1% se os pacientes forem tratados rapidamente, mas é muito superior em pacientes não tratados, particularmente naqueles infectados com estirpes do tipo A-leste.

Para prevenir a infecção, os indivíduos deverão evitar os reservatórios e vetores da infecção (p.ex., coelhos, carrapatos, insetos que mordem), mas isso é muitas vezes difícil de cumprir. Como cuidados mínimos, as pessoas não deverão manusear coelhos que pareçam doentes e deverão usar luvas ao proceder a remoção da pele e evisceração dos animais. Uma vez que o organismo está presente nas fezes dos artrópodes e não na saliva, o carrapato terá de se alimentar por um período prolongado antes da infecção ser transmitida. A remoção imediata do carrapato pode, portanto, impedir a infecção. O uso de roupa protetora e de repelentes de insetos reduz o risco de exposição. Os indivíduos que têm uma exposição de alto risco (p.ex., a exposição a um aerossol infeccioso) devem fazer antibioticoterapia profilática. O interesse no desenvolvimento de uma vacina viva atenuada é motivado pelo medo da exposição à bactéria como um agente de bioterrorismo; no entanto, não está disponível uma vacina eficaz. As vacinas inativadas não induzem imunidade celular protetora.

Legionella

No verão de 1976, a atenção do público esteve voltada para um surto de pneumonia grave, que causou muitas mortes entre os membros da Legião Americana, participantes de uma convenção na Filadélfia. Depois de meses de investigações intensivas, foi isolado um bacilo Gram-negativo, previamente desconhecido. Pesquisas subsequentes mostraram que este organismo, denominado *Legionella pneumophila*, era a causa de várias epidemias e de infecções esporádicas. O organismo não tinha sido previamente descoberto, porque cora-se fracamente na presença de corantes convencionais e não cresce em meios laboratoriais comuns. Apesar dos problemas iniciais com o isolamento de organismos de *Legionella*, é agora reconhecido como um saprófita aquático ubíquo.

A família da Legionellaceae consiste em quatro gêneros: Legionella, Fluoribacter, Tatlockia e Sarcobium. A Legionella é o gênero mais importante, com 58 espécies e 3 subespécies. Cerca de metade dessas espécies têm estado implicadas na doença humana, com as restantes sendo encontrados em fontes ambientais. A L. pneumophila é a causa de 90% de todas as infecções; os sorotipos 1 e 6 são os mais frequentemente isolados. A Fluoribacter engloba 3 espécies, Tatlockia engloba 2 espécies e Sarcobium 1 espécie. Fluoribacter bozemanae e Tatlockia micdadei, anteriormente membros do gênero Legionella, causam doença semelhante à L. pneumophila e são com frequência referidos na literatura pelos seus nomes históricos.

Os membros do gênero *Legionella* são **bacilos Gram-negativos, delgados, pleomórficos**, que medem 0.3 a 0.9×0.2 μ m em tamanho. Os organismos apresentam-se caracteristicamente como cocobacilos curtos quando observados nos tecidos, mas são muito pleomórficos (até 20 μ m de comprimento) em meios de cultura artificiais (Fig. 29-7). As *Legionellas* em amostras clínicas não apresentam coloração com reagentes comuns mas podem ser vistos em tecidos corados com coloração pela prata de Dieterle. Uma das espécies, *T. micdadei*, também é passível de ser corada com corante ácido rápido, mas os organismos perdem essa propriedade quando cultivados *in vitro*.

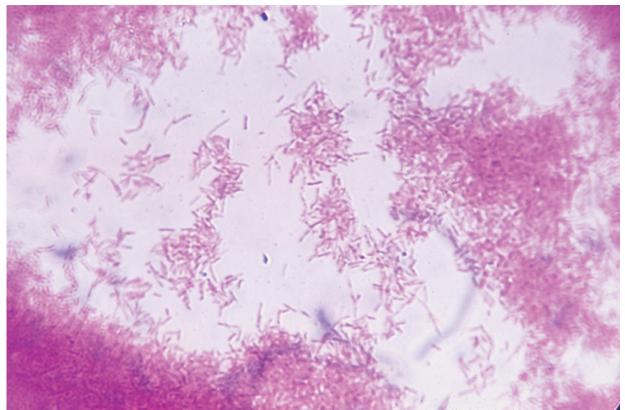


FIGURA 29-7 Coloração Gram de *Legionella pneumophila* em ágar extrato de levedura-carvão tamponado. Observe as formas pleomórficas características da *Legionella*. (Cortesia de Dr. Janet Stout, Pittsburgh, Penn.)

As *Legionellas* são aeróbicos obrigatórios e nutricionalmente exigentes. Elas necessitam de um meio suplementado com L-cisteína e o seu crescimento é impulsionado com a adição de ferro. O crescimento dessas bactérias em meios suplementados, mas não em meios ágar-sangue convencionais, tem sido usado como a base para a identificação preliminar de isolados clínicos. As bactérias desenvolveram vários métodos para adquirir ferro a partir das células dos seus hospedeiros ou nos meios *in vitro*, e a perda dessa capacidade está associada à perda de virulência. Os organismos utilizam a energia proveniente do metabolismo dos aminoácidos, mas não dos hidratos de carbono.

A doença do trato respiratório causada por espécies de *Legionella* desenvolve-se em pessoas suscetíveis após a inalação de aerossóis infecciosos. Os organismos de *Legionella* são **bactérias intracelulares** facultativas que se multiplicam em amebas livres na natureza e nos macrófagos alveolares, monócitos e células epiteliais alveolares de hospedeiros infectados. Essa capacidade para infectar e replicar-se em macrófagos é mediada, em primeiro lugar, pela ligação do componente C3b do complemento a uma proteína porina da membrana exterior na superfície bacteriana e, depois, pela ligação ao receptor do complemento CR3 na superfície do fagócito mononuclear. Os organismos, então, penetram na célula através de endocitose e iniciam a sua replicação. As bactérias não são eliminadas nas células pela exposição ao superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxilo tóxicos, porque a fusão do fagolisossoma é inibida. As quimiocinas e citocinas liberadas pelos macrófagos infectados estimulam uma resposta inflamatória potente que é característica da infecção por *Legionella*. Os organismos proliferam nos seus vacúolos intracelulares e produzem enzimas proteolíticas (fosfatase, lipase e nuclease), que, eventualmente, matam a célula hospedeira quando o vacúolo é lisado. A imunidade à doença é principalmente mediada por células, com a imunidade humoral tendo um papel menor. As bactérias não são eliminadas até as células T auxiliares (células TH1) sensibilizadas ativarem os macrófagos parasitados. A produção de IFN-γ é fundamental para a eliminação dos organismos de *Legionella*.

As Legionellas têm uma distribuição mundial, com frequência presente em cursos naturais de água tais como lagos e riachos, bem como nas torres de ar condicionado, e condensadores e em sistemas de água (p.ex., chuveiros, banheiras de hidromassagem). As infecções humanas estão mais frequentemente associadas à exposição a aerossóis contaminados (p.ex., torres de arrefecimento do ar condicionado, banheiras de hidromassagem, chuveiros, vaporizadores de água). Os organismos podem sobreviver em ambientes úmidos por um longo período, a temperaturas relativamente elevadas e na presença de desinfetantes tais como o cloro. Uma das razões para a sua sobrevivência é que as bactérias parasitam amebas na água e replicam-se neste ambiente protegido (semelhante à sua replicação em macrófagos humanos). As bactérias também sobrevivem em biofilmes que se desenvolvem nas canalizações dos sistemas de água.

A incidência de infecções causadas por espécies de *Legionella* é desconhecida, já que a doença é difícil de documentar. O número de casos reportados tem aumentado constantemente desde os anos 2000, com mais de 4.200 casos notificados em 2011. No entanto, o CDC estima que ocorram por ano até 18.000 casos da doença dos legionários nos Estados Unidos. Estudos sorológicos têm mostrado também que uma proporção significativa da população adquiriu imunidade para estes organismos. É razoável concluir que o contato com o organismo e a aquisição de imunidade após uma infecção assintomática são situações frequentes.

Embora surtos esporádicos da doença possam ocorrer durante todo o ano, a maioria das infecções epidêmicas ocorrem no final do verão e no outono, pois o organismo prolifera em reservatórios de água durante os meses quentes. Mais de 90% das infecções documentadas nos Estados Unidos ocorrem em indivíduos com idade igual ou superior a 40 anos, presumivelmente porque eles são mais propensos a ter uma diminuição da imunidade celular e uma função pulmonar comprometida. Uma proporção significativa dos casos reportados é adquirida em hospitais devido ao predomínio de pacientes de alto risco. Não foi demonstrada a propagação pessoa a pessoa ou a existência de um reservatório animal.

Considera-se que as infecções assintomáticas por *Legionella* são relativamente frequentes. As infecções sintomáticas afetam principalmente os pulmões e apresentam-se de uma das duas formas (Quadro 29-1): (1) uma doença semelhante à gripe (referida como **febre de Pontiac**) e (2) uma forma grave de pneumonia (i.e., **doença dos legionários**).

A *L. pneumophila* foi responsável por causar uma doença febril, autolimitada, em indivíduos que trabalhavam em Pontiac, Michigan, no Departamento de Saúde Pública, em 1968. São características da doença, febre, calafrios, mialgia, mal-estar e cefaleias, mas sem evidência clínica de pneumonia. Os sintomas desenvolveram-se ao longo de 12 horas, persistiram por 2 a 5 dias e, depois, cessaram espontaneamente, sem antibioticoterapia e com taxas de morbidade mínimas e sem óbitos. Outros surtos da febre de Pontiac, com e sem pneumonia por *Legionella*, foram reportados. A patogênese exata dessa síndrome é desconhecida, embora se acredite que tal doença é causada por uma reação de hipersensibilidade à toxina bacteriana (p.ex., endotoxina).

A doença dos legionários (legionelose; Caso Clínico 29-6) é caracteristicamente mais grave e, se não tratada de maneira rápida, causa considerável morbidade, muitas vezes levando à morte em 15% dos indivíduos previamente saudáveis e em até 75% dos pacientes imunocomprometidos. Após um período de incubação de 2 a 10 dias, iniciam-se, abruptamente, os sinais sistêmicos da doença aguda (p.ex., febre e calafrios, tosse seca não produtiva, cefaleias). É comum a ocorrência de doença multiorgânica, envolvendo o trato gastrointestinal, sistema nervoso central, fígado e rins. A manifestação principal é a pneumonia, com consolidação e inflamação multilobar e microabscessos no tecido pulmonar observados em estudos histopatológicos. A função pulmonar deteriora-se, de forma contínua, em pacientes suscetíveis com doença não tratada. A apresentação clínica da pneumonia causada por *Legionella* não é única, e portanto, os exames laboratoriais são necessários para a confirmação do diagnóstico.



Caso Clínico 29-6 Surto da Doença dos Legionários

Kirrage et al. (*Respir Med* 101:1639-1644, 2007) descreveram um surto da doença do legionário (DL) que ocorreu em Hereford, Inglaterra. Em 24 de outubro de 2003, a agência de saúde pública recebeu a notificação de que um homem idoso havia morrido por DL. Três dias depois, a agência recebeu outra notificação de que uma mulher idosa com quem havia ocorrido o mesmo. Como parte de uma investigação de vigilância ativa, mais dois pacientes com testes positivos de antígenos para *Legionella* na urina foram identificados em um hospital local. Outras investigações revelaram 28 pacientes epidemiologicamente relacionados com o início da doença desde 8 de outubro até 20 de novembro. Todos os pacientes apresentaram testes do antígeno na urina positivos; quatro deles tiveram títulos de anticorpos elevados, e dois tiveram culturas positivas. A origem do surto foi uma torre de arrefecimento que tinha sido ativada recentemente, após um período de inatividade. Após a torre ter sido encerrada e sujeita a novo tratamento de limpeza, a epidemia cessou. Este caso ilustra a dificuldade em detectar o problema quando os indivíduos infectados recorrem a diferentes hospitais. Isso constitui um problema, sobretudo quando a fonte da infecção se localiza em um hotel ou local de férias.

Desde que a *Legionella* foi isolada pela primeira vez, o diagnóstico laboratorial da infecção por esse organismo passou por uma transição significativa. Os testes iniciais dependiam da microscopia, cultura e sorologia. Apesar do exame cultural continuar a ser o padrão de referência para o diagnóstico, a microscopia e a sorologia têm sido substituídos por imunoensaios para a detecção de antígenos específicos da *Legionella* na urina, e os testes de amplificação de ácidos nucleicos substituíram a microscopia e a sorologia. As bactérias coram-se fracamente com o corante Gram e são raras vezes observadas em amostras clínicas; a sorologia é insensível e não específica.

Os imunoensaios são utilizados para detectar **antígenos lipopolissacarídeos específicos para o sorogrupo 1 da***Legionella* solúveis, excretados na urina de pacientes infectados. A sensibilidade desses ensaios para o sorogrupo 1 de *L. pneumophila* é relativamente elevada (até 90%), em especial na urina concentrada, mas os ensaios não detectam com fiabilidade outros sorogrupos ou espécies de *Legionella*. Esta é uma importante distinção tendo em vista que o sorogrupo 1 da *L. pneumophila* é responsável por 80% a 90% das infecções adquiridas na comunidade, mas é responsável por menos de 50% das infecções hospitalares. Os antígenos persistem na urina de pacientes tratados, com quase 50% dos pacientes permanecendo positivos 1 mês depois da infecção e 25% após 2 meses. A persistência de antígenos é particularmente comum em pacientes imunodeprimidos, nos quais os antígenos podem persistir até 1 ano.

Os testes de amplificação de ácidos nucleicos possuem uma especificidade elevada e têm uma sensibilidade equivalente à cultura para a detecção de espécies de *Legionella* em secreções respiratórias (i.e., no lavado alveolar brônquico). A presença de inibidores nas secreções respiratórias pode causar reações falso-negativas, pelo que todas as amostras deverão ainda ser cultivadas.

Ainda que os organismos de *Legionella* tenham sido difíceis de isolar inicialmente, os meios disponíveis comercialmente, nos dias de hoje, tornam a realização do exame cultural fácil (sensibilidade do teste, de 80% a > 90%). Como mencionado,

as *Legionellas* necessitam de L-cisteína, e o seu isolamento é favorecido pela presença de sais de ferro (disponíveis na hemoglobina ou no pirofosfato férrico). O meio de cultura mais frequentemente utilizado para o isolamento de *Legionella* é o ágar extrato de levedura-carvão (BCYE), embora tenham sido usados outros meios de cultura com suplementos. Podem ser adicionados antibióticos para suprimir o crescimento de bactérias contaminantes de crescimento rápido. As *Legionellas* crescem na presença de ar ou de dióxido de carbono de 3% a 5%, a 35°C, após um período de 3 a 5 dias. As colônias pequenas (1 a 3 mm) têm uma aparência característica de vidro fosco.

É fácil identificar um isolamento cultural de *Legionella* através dos achados de morfologia típica e requisitos de crescimento específicos. As *Legionellae* apresentam-se como bacilos Gram-negativos, pleomórficos, finos e com coloração fraca. O seu crescimento em ágar BCYE, mas não em meios sem L-cisteína, é uma evidência presuntiva de que o organismo é *Legionella*. Em contraste com a identificação do gênero, a classificação da espécie é problemática e, geralmente, relegada para laboratórios de referência. Embora os testes bioquímicos sejam úteis para diferenciar espécies, elas podem ser definitivamente identificadas apenas através da sequenciação de genes-alvo específicos da espécie ou da avaliação dos perfis de proteínas por espectrometria de massa.

Os testes de suscetibilidade *in vitro* não são realizados com *Legionella*, porque os organismos crescem mal no meio de cultura frequentemente usado para esses testes. Além disso, alguns antibióticos que parecem ter atividade *in vitro* são ineficazes no tratamento das infecções. Uma explicação é que esses antibióticos não conseguem penetrar os macrófagos onde as *Legionellas* sobrevivem e se multiplicam. A experiência clínica acumulada indica que os **macrolídeos** (p.ex., azitromicina, claritromicina) ou as **fluoroquinolonas** (p.ex., ciprofloxacina, levofloxacina) devem ser utilizados para tratar infecções de *Legionella*. Os antibióticos β-lactâmicos são ineficazes, porque a maioria dos isolamentos de cultura produzem β-lactamase e esses antibióticos não penetram nos macrófagos. Geralmente, é desnecessária terapêutica específica para a febre de Pontiac, pois se trata de uma doença de hipersensibilidade autolimitada.

A prevenção da doença do legionário exige a identificação da fonte ambiental do organismo e da redução da carga microbiana. A hipercloração do abastecimento de água e a manutenção da água a temperaturas elevadas revelaram-se um sucesso moderado. Contudo, a eliminação de organismos de *Legionella* a partir de um abastecimento de água é muitas vezes difícil ou impossível de alcançar. Visto que o organismo tem um baixo potencial para causar doença, a redução do número de organismos na água de abastecimento é, frequentemente, uma medida de controle adequada. Hospitais com pacientes de alto risco para a doença deverão monitorizar regularmente a presença de *Legionella* na população do hospital e no abastecimento de água hospitalar. Se a hipercloração ou o superaquecimento da água não eliminar a doença (a eliminação completa dos organismos na água de abastecimento, provavelmente, não é possível), pode-se recorrer à ionização de cobre e prata contínua do abastecimento de água.

Streptobacillus

Streptobacillus moniliformis, o agente causador da febre da mordedura do rato, é um bacilo Gram-negativo, fino (0,1 a 0.5×1 a 5 μ m), longo, que tende a corar pouco e a ser mais pleomórfico em culturas mais antigas. Podem ser vistos grânulos, dilatações bulbosas semelhantes a um colar de contas e filamentos extremamente longos (Fig. 29-8).

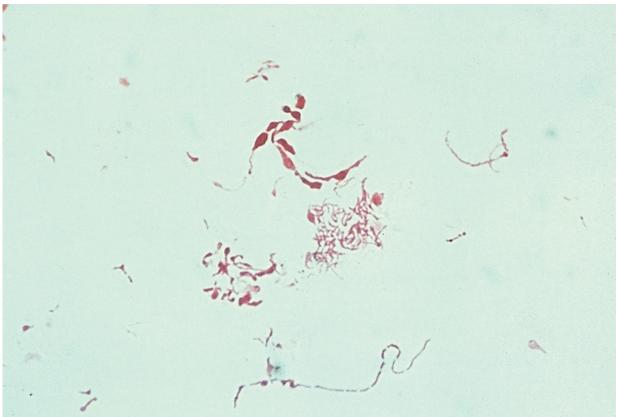


FIGURA 29-8 Coloração Gram de *Streptobacillus moniliformis*; observe as formas pleomórficas e inchaços bulbosos.

O *Streptobacillus* é encontrado na nasofaringe de ratos e de outros roedores pequenos, bem como, transitoriamente, em animais que se alimentam de roedores (p.ex., cães, gatos). As infecções humanas resultam de mordeduras de roedores (febre da mordedura do rato; Caso Clínico 29-7) ou muito menos frequentemente, do consumo de alimentos ou água contaminados (febre de Haverhill) (Quadro 29-1). A maioria dos casos de febre da mordedura do rato nos Estados Unidos ocorre em crianças com ratos de estimação, trabalhadores de laboratório e de lojas de animais. Após um período de incubação de 2 a 10 dias, o aparecimento da febre da mordedura do rato é abrupta, caracterizada por febre irregular, cefaleias, arrepios, mialgias e dor migratória em diversas articulações (poliartralgias). Uma erupção maculopapular ou petequial desenvolve-se alguns dias mais tarde, com extensão para as mãos e pés. Essa erupção hemorrágica em um paciente com uma história recente de uma mordedura de rato e poliartralgias migratórias é diagnóstica. Na ausência de antibióticos eficazes, a febre da mordedura do rato está associada a uma taxa de mortalidade de 10%. Apesar do tratamento eficaz, alguns pacientes apresentarão poliartralgias persistentes, fadiga e uma erupção cutânea de lenta resolução.



Caso Clínico 29-7 Febre da Mordedura do Rato

Irvine (Clin Microbiol Newslett 28:15-17, 2006) descreveu a situação de um homem de 60 anos que desenvolveu a febre da mordedura do rato. O paciente foi admitido ao hospital queixando-se de febre, confusão, cefaleias e lesões pustulosas em ambas as mãos. Foi feito o diagnóstico de sepse e foram realizadas hemoculturas, culturas de líquido cefalorraquidiano (LCR) e coleta do material purulento das lesões. Os linfócitos constituíram as células predominantes no LCR, e não foram observadas bactérias com a coloração Gram, em consistência com meningite asséptica. A coloração Gram do material purulento revelou bacilos Gram-negativos pleomórficos. Após 3 dias de incubação, detectou-se crescimento cultural de bactérias, quer na amostra sanguínea, quer na amostra do material da ferida. O crescimento nas culturas de sangue em meio líquido tinha a aparência de grumos de organismos assemelhando-se a "migalhas de pão". O organismo foi posteriormente identificado como *Streptobacillus moniliformis*. O paciente foi tratado com penicilina, e, dentro de 24 horas, a febre e o quadro de confusão cessaram. A elaboração de uma história social mais completa revelou que o paciente tinha uma cobra de estimação, e mantinha camundongos para alimentar a cobra. Embora ele não se lembrasse de ter sofrido mordeduras de camundongo recentemente, a exposição de feridas abertas nas suas mãos em contato com os roedores teria sido suficiente para desenvolver uma infecção.

A confirmação laboratorial de infecção por *Streptobacillus* é difícil. Deve-se colher amostras de sangue e de fluidos das articulações, e deve-se avisar o laboratório que existe a suspeita de *S. moniliformis*, porque o crescimento do organismo requer o uso de meios enriquecidos suplementados com 15% de sangue, 20% soro de cavalo ou vitelo, ou 5% de fluido ascítico. *S. moniliformis* cresce lentamente necessitando, pelo menos, de 3 dias para ser isolado. Quando isolado em caldo de cultura (meio líquido), possui a aparência de bolas de algodão. Quando cultivadas em ágar (meio sólido), observam-se

colônias redondas pequenas, e as colônias de variantes deficientes na parede celular assemelham-se a ovos fritos (centro empilhado e com as extremidades aplanadas) em meios de ágar (Fig. 29-9). É difícil identificar os organismos através de testes bioquímicos, porque eles são relativamente inativos a nível metabólico. O método mais confiável para identificar os isolamentos em cultura é a sequenciação do gene RNAr 16S. O *S. moniliformis* é suscetível a muitos antibióticos, incluindo a **penicilina** (não ativa contra as variantes de parede celular defeituosa) e **tetraciclina**.

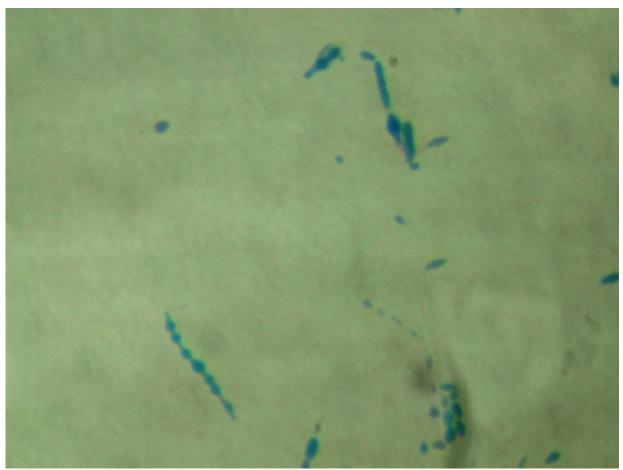


FIGURA 29-9 Coloração por azul de metileno de *Streptobacillus moniliformis* a partir de uma cultura de sangue positiva, proveniente de uma menina de 2 anos, residente no Kuwait, após exposição a roedores. (Cortesia de Dr. R.M. Joshi, Safat, Kuwait.)

Referências Bibliográficas

Barker JR, Chong A, Wehrly TD, et al. The *Francisella tularensis* pathogenicity island encodes a secretion system that is required for phagosome escape and virulence. *Mol Microbiol*. 2009;74:1459–1470.

Carbonetti N. Pertussis toxin and adenylate cyclase toxin: key virulence factors of *Bordetella pertussis* and cell biology tools. *Future Microbiol.* 2010;5:455–469.

de Gouw D, Diavatopoulos DA, Bootsma HJ, et al. Pertussis: a matter of immune modulation. FEMS Microbiol Rev. 2011;35:441–474. Elliott S. Rat bite fever and Streptobacillus moniliformis. Clin Microbiol Rev. 2007;20:13–22.

Fields BS, Benson RF, Besser RE. *Legionella* and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:506–526. Guiso N. *Bordetella pertussis* and pertussis vaccines. *Clin Infect Dis.* 2009;49:1565–1569.

Hayden RT, Uhl JR, Qian X, et al. Direct detection of *Legionella* species from bronchoalveolar lavage and open lung biopsy specimens: comparison of LightCycler PCR, in situ hybridization, direct fluorescence antigen detection, and culture. *J Clin Microbiol*. 2001;39:2618–2626.

Helbig JH, Uldum SA, Bernander S, et al. Clinical utility of urinary antigen detection for diagnosis of community-acquired, travel-associated, and nosocomial legionnaires' disease. *J Clin Microbiol*. 2003;41:838–840.

Jones BD, Faron M, Rasmussen JA, et al. Uncovering the components of the *Francisella tularensis* virulence stealth strategy. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014;4:32.

Koehler JE, Sanchez MA, Tye S, et al. Prevalence of *Bartonella* infection among human immunodeficiency virus–infected patients with fever. *Clin Infect Dis*. 2003;37:559–566.

Malani AN, Aronoff DM, Bradley SF, et al. *Cardiobacterium hominis* endocarditis: two cases and a review of the literature. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25:587–595.

Mattoo S, Cherry J. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:326–382.

- Melvin JA, Scheller EV, Miller JF, et al. Bordetella pertussis pathogenesis: current and future challenges. Nat Rev Microbiol. 2014;12:274–284.
- Metzkor-Cotter E, Kletter Y, Avidor B, et al. Long-term serological analysis and clinical follow-up of patients with cat scratch disease. *Clin Infect Dis.* 2003;37:1149–1154.
- Modol J, Sabria M, Reynaga E, et al. Hospital-acquired legionnaires disease in a university hospital: impact of the copper-silver ionization system. *Clin Infect Dis*. 2007;44:263–265.
- Newton HJ, Ang DK, van Driel IR, et al. Molecular pathogenesis of infections caused by *Legionella pneumophila*. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23:274–298.
- Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, et al. Brucellosis. N Engl J Med. 2005;352:2325–2336.
- Prutsky G, Domecq JP, Mori L, et al. Treatment outcomes of human bartonellosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2013;17:e811–e819.
- Resto-Ruiz S, Burgess A, Anderson B. The role of the host immune response in pathogenesis of *Bartonella henselae*. *DNA Cell Biol*. 2003;22:431–440.
- Staples JE, Kubota KA, Chalcraft LG, et al. Epidemiologic and molecular analysis of human tularemia, United States, 1964-2004. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:1113–1118.
- Starr T, Ng TW, Wehrly TD, et al. *Brucella* intracellular replication requires trafficking through the late endosomal/lysosomal compartment. *Traffic*. 2008;9:678–694.

CAPÍTULO 30

Clostridium

O gênero Clostridium é constituído por um grupo heterogêneo de bacilos anaeróbios grandes e formadores de esporos. Patógenos como Clostridium tetani e Clostridium botulinum, respectivamente, agentes do tétano e botulismo, são bem reconhecidos e têm significado histórico; a doença causada por Clostridium difficile tem evoluído nos últimos anos, como uma complicação infecciosa pelo uso de antibióticos, tanto no hospital como na comunidade. Outras espécies de clostrídio são também patógenos bem reconhecidos.

- 1. Clostridium perfringens é uma causa importante de mionecrose. Que fatores de virulência são responsáveis pela doença?
- 2. Envenenamento alimentar por *C. perfringens* e *C. botulinum* é causado pela ingestão de toxinas (intoxicação). Compare as manifestações clínicas das duas doenças.
- 3. Qual a doença causada por *Clostridium septicum* e quais os pacientes mais suscetíveis? **As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br**.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Clostridium difficile

Palavras-gatilho

Formador de esporos, transporte fecal, diarreia associada a antibióticos, toxinas A e B

Biologia e Virulência

- Bacilos anaeróbios grandes caracterizados pela formação abundante de esporos, crescimento rápido, e produção de ácidos graxos voláteis
- A maioria das cepas produz duas toxinas: uma enterotoxina que atrai neutrófilos e estimula a liberação de citocinas, e uma citotoxina que aumenta a permeabilidade da parede intestinal, com diarreia subsequente
- A formação de esporos permite a persistência do organismo em ambiente hospitalar e a resistência aos esforços de descontaminação
- Resistência a antimicrobianos, como clindamicina, cefalosporinas e fluoroquinolonas, permite ao *C. difficile* sobrepujar as bactérias intestinais normais e instalar a doença em pacientes expostos a esses antibióticos

Epidemiologia

- Coloniza o intestino de um pequeno percentual de indivíduos saudáveis (< 5%)
- Exposição a antimicrobianos está associada a crescimento rápido de *C. difficile* e doença subsequente (infecção endógena)
- Esporos podem ser detectados em quartos hospitalares de pacientes infectados (especialmente em torno de leitos e banheiros), podendo ser uma fonte exógena de infecção
- Hoje em dia, uma cepa altamente virulenta de *C. difficile* provoca doença em comunidades e hospitais do Canadá, dos Estados Unidos e da Europa

Doenças

- Diarreia associada a antibióticos: diarreia aguda geralmente desenvolvendo-se em 5 a 10 dias após o início do tratamento antibiótico; pode ser breve e autolimitada, ou mais prolongada
- Colite pseudomembranosa: forma mais grave da doença de *C. difficile*, com diarreia profusa, cólicas abdominais e febre; formam-se placas esbranquiçadas (pseudomembranas) sobre o tecido do cólon intacto

Diagnóstico

• Doença causada por *C. difficile* é confirmada pela detecção de citotoxina, ou enterotoxina, ou pelos genes das toxinas nas fezes do paciente

Tratamento, Prevenção e Controle

- A administração de antibióticos deve ser interrompida
- Tratamento com metronidazol ou vancomicina deve ser usado em doença grave; transplantes fecais têm sido utilizados para tratar a doença recorrente

- Recaídas são comuns, porque os antibióticos não matam os esporos; um segundo ciclo de terapia com o mesmo antibiótico normalmente é bem-sucedido, embora possam ser necessários vários ciclos
- Os quartos de hospitais devem ser cuidadosamente limpos após a alta de um paciente infectado

Clostridium perfringens

Palavras-gatilho

Formador de esporos fraco, ambiental, mionecrose, septicemia, intoxicação alimentar, desbridamento cirúrgico

Biologia e Virulência

- Bacilos Gram-positivos grandes com esporos raramente observados
- Morfologia das colônias distintas e crescimento rápido
- Produz muitas toxinas e enzimas que lisam células sanguíneas e destroem tecidos, acarretando doenças como sepse devastadora, hemólise massiva e mionecrose
- Produz uma enterotoxina termolábil que se liga a receptores no epitélio do intestino delgado, resultando em perda de fluidos e íons (diarreia aquosa)

Epidemiologia

- Ubíquo; presente em solo, água e trato intestinal de seres humanos e outros animais
- Cepas do tipo A são responsáveis pela maioria das infecções humanas

Doenças

- Intoxicação alimentar associada a carne contaminada (carne, aves comestíveis, molhos), mantida a temperaturas entre 5°C e 60°C, o que permite aos organismos crescerem até grande número
- Infecções de tecidos moles tipicamente associadas a contaminação bacteriana de feridas ou traumas localizados

Diagnóstico

- Observado em amostras de tecidos corados pelo método de Gram (bacilos Gram-positivos grandes)
- Cresce rapidamente em cultura

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratamento rápido é essencial em infecções graves
- Infecções graves necessitam desbridamento cirúrgico e tratamento com altas doses de penicilina
- Tratamento sintomático para a intoxicação alimentar
- Tratamento adequado da ferida e uso criterioso de antibióticos profiláticos previnem a maioria das infecções

Clostridium tetani

Palavras-gatilho

Formador de esporos, ambiental, neurotoxina bloqueia o GABA e glicina, feridas contaminadas, tétano, vacina

Biologia e Virulência

- Micro-organismo extremamente sensível à presença de oxigênio, o que torna difícil a detecção em cultura
- O principal fator de virulência é a tetanospasmina, uma neurotoxina termolábil que bloqueia a liberação de neurotransmissores (i.e., ácido gama-aminobutírico, glicina) para sinapses inibitórias

Epidemiologia

- Ubiquitário; esporos são encontrados na maioria dos solos e podem colonizar o trato gastrointestinal de seres humanos e outros animais
- A exposição a esporos é comum, mas a doença é incomum, a não ser em países em desenvolvimento, onde a população tem acesso limitado a vacinas e cuidados médicos
- O risco é maior para as pessoas com imunidade induzida por vacina inadequada
- A doença não induz imunidade

Doenças

• A doença é caracterizada por espasmos musculares e envolvimento do sistema nervoso autônomo

Diagnóstico

- O diagnóstico é baseado no quadro clínico e não em exames laboratoriais
- Microscopia e cultura são insensíveis; normalmente não são detectados toxina tetânica e anticorpos

Tratamento, Prevenção e Controle

- O tratamento requer desbridamento, terapia com antibiótico (metronidazol), imunização passiva com antitoxina glubulínica e vacinação com toxoide tetânico
- A prevenção pela vacinação consiste em três doses de toxoide tetânico, seguidas de doses de reforço a cada 10 anos

Clostridium botulinum

Palavras-gatilho

Formador de esporos, ambiental, neurotoxina bloqueia acetilcolina, alimentos contaminados, origem alimentar e botulismo infantil, nenhuma vacina

Biologia e Virulência

- Sete toxinas botulínicas distintas (A a G) são produzidas, sendo a doença humana mais comumente causada pelos tipos A e B; tipos E e F também são associados a doenças humanas
- Toxina botulínica impede a liberação do neurotransmissor acetilcolina, bloqueando, assim, a neurotransmissão colinérgica para as sinapses periféricas, ocasionando paralisia flácida

Epidemiologia

- Esporos de *C. botulinum* são encontrados no solo em todo o mundo
- Relativamente poucos casos de botulismo são descritos nos Estados Unidos, mas a doença é prevalente em países em desenvolvimento
- Nos Estados Unidos, o botulismo infantil é mais comum que outras formas

Doencas

- O botulismo de origem alimentar é caracterizado por visão turva, boca seca, obstipação e dor abdominal, com fraqueza progressiva dos músculos periféricos e paralisia flácida
- O botulismo infantil começa com sintomas inespecíficos, mas evolui para paralisia flácida
- Outras formas de botulismo incluem botulismo de feridas e botulismo de inalação

Diagnóstico

- Diagnóstico de botulismo alimentar é confirmado se a atividade da toxina é demonstrada no alimento suspeito ou no soro, fezes ou líquido gástrico dos pacientes
- Botulismo infantil é confirmado pela detecção da toxina nas fezes ou soro das crianças, ou isolamento do organismo em amostra de fezes
- Botulismo de feridas é confirmado se a toxina é detectada no soro ou no ferimento do paciente, ou se o organismo é isolado a partir da ferida

Tratamento, Prevenção e Controle

- O tratamento envolve administração de metronidazol ou penicilina, antitoxina botulínica trivalente e suporte ventilatório
- Germinação de esporos em alimentos é prevenida pela manutenção do alimento em pH ácido, em alta concentração de açúcar (p.ex., frutas cristalizadas), ou por armazenamento em temperaturas iguais ou inferiores a 4°C
- A toxina é termolábil, portanto pode ser destruída pelo aquecimento dos alimentos durante 10 minutos entre 60°C e 100°C
- Botulismo infantil está associado a ingestão de solo ou alimentos contaminados (principalmente mel)

Historicamente, o grupo de todos os bacilos Gram-positivos anaeróbios formadores de endósporos foi colocado no gênero *Clostridium*; no entanto, alguns membros clinicamente significantes desse gênero podem ser classificados de maneira errônea. Esporos raras vezes são demonstrados em algumas espécies (*Clostridium perfringens*, *Clostridium ramosum*), algumas espécies são aerotolerantes e podem crescer em ágar exposto ao ar (*Clostridium tertium*, *Clostridium histolyticum*), enquanto certas espécies coram-se consistentemente como Gram-negativos (*Clostridium ramosum*, *Clostridium clostridioforme*). Não é surpreendente que o sequenciamento dos genes tenha levado à reorganização desse grupo heterogêneo de organismos em muitos gêneros novos; todavia, a maioria das espécies clinicamente significativas tem homologia com o grupo I e permanece no gênero *Clostridium*. Essas bactérias são o foco deste capítulo (Tabela 30-1).



Clostrídios Importantes

Organismo	Origem Histórica
Clostridium	closter, um fuso
C. botulinum	botulus, salsicha (o primeiro grande surto foi associado a salsicha insuficientemente defumada)
C. difficile	difficile, difícil (difícil de isolar e crescer; refere-se à extrema sensibilidade ao oxigênio)
C. perfringens	perfringens, rompendo (associado a necrose tecidual altamente invasiva)
C. septicum	septicum, putrefativo (associado a sepse e elevada taxa de mortalidade)
C. sordellii	sordellii, em homenagem ao bacteriologista Sordelli, que primeiramente descreveu o organismo
C. tertium	tertium, terceiro (historicamente, o terceiro anaeróbio mais isolado de feridas de guerra)
C. tetani	tetani, relacionado com tensão (a doença causada por este organismo é caracterizada por espasmos musculares)

Os clostrídios são **ubíquos** no solo, água e esgotos, e são parte da população microbiana normal no trato gastrointestinal (GI) de animais e seres humanos. A maioria dos clostrídios são saprófitas inofensivos, mas alguns são patógenos humanos bem reconhecidos com uma história claramente documentada como causa de doenças, tais como **intoxicação alimentar** (*C. perfringens*), **diarreia** e **colite** (*Clostridium difficile*), **tétano** (*Clostridium tetani*), **botulismo** (*Clostridium botulinum*, *Clostridium baratii*, *Clostridium butyricum*) e **mionecrose** (**gangrena gasosa**) (*C. perfringens*, *Clostridium novyi*, *Clostridium septicum*, *C. histolyticus*) (Tabela 30-2; Quadro 30-1). A notável capacidade do *Clostridium* em causar doenças é atribuída: (1) à sua habilidade de sobreviver em condições ambientais adversas, graças à formação de esporos; (2) ao rápido crescimento em ambiente nutricionalmente rico e sem oxigênio; e (3) à produção de inúmeras toxinas histolíticas, enterotoxinas e neurotoxinas.



Tabela 30-2

Clostrídios Patogênicos e Doenças Humanas Associadas*

Espécies	Doença Humana	Frequência
C. difficile	Diarreia associada a antibióticos, colite pseudomembranosa	Comum
C. perfringens	Infecções de tecidos moles (p.ex., celulite, miosite supurativa, mionecrose, gangrena gasosa), intoxicação alimentar, enterite necrotizante, septicemia	Comum
C. septicum	Gangrena gasosa, septicemia	Incomum
C. botulinum	Botulismo	Incomum
C. tetani	Tétano	Incomum
C. tertium	Infecções oportunistas	Incomum
C. baratii	Botulismo	Rara
C. butyricum	Botulismo	Rara
C. clostridioforme	Infecções oportunistas	Rara
C. histolyticum	Gangrena gasosa	Rara
C. innocuum	Infecções oportunistas	Rara
C. novyi	Gangrena gasosa	Rara
C. ramosum	Infecções oportunistas	Rara
C. sordellii	Gangrena gasosa, síndrome de choque séptico	Rara
C. sporogenes	Infecções oportunistas	Rara

^{*} Outras espécies de *Clostridium* têm sido associadas a doenças humanas, mas sobretudo como patógenos oportunistas. Além disso, algumas espécies (p.ex., *C. clostridioforme, C. innocuum, C. ramosum*) são comumente isoladas, mas raras vezes associadas a doenças.



Quadro 30-1 Doenças por Clostrídios: Resumos Clínicos

Diarreia associada a antimicrobianos: desenvolvimento de diarreia aguda, em geral 5 a 10 dias após o início do tratamento com antibióticos (em especial clindamicina, penicilinas, cefalosporinas, fluoroquinolonas); pode ser breve e autolimitada ou mais prolongada

Colite pseudomembranosa: forma mais grave da doença por *C. difficile*, presença de diarreia abundante, cólicas abdominais e febre; placas esbranquiçadas (pseudomembranas) sobre o tecido intacto do cólon são observadas na colonoscopia

Clostridium perfringens

Infecções de Tecidos Moles

Celulite: edema e eritema localizados com formação de gás nos tecidos moles; geralmente sem dor

Miosite supurativa: acúmulo de pus (supuração) nos músculos lisos, sem necrose muscular ou sintomas sistêmicos

Mionecrose: destruição do tecido muscular rápida e dolorosa; disseminação sistêmica com alta mortalidade

Gastroenterites

Intoxicação alimentar: rápido aparecimento de cólicas abdominais e diarreia aquosa sem febre, náuseas ou vômitos; curta duração e autolimitada

Enterite necrotizante: destruição necrotizante aguda do jejuno com dor abdominal, vômitos, diarreia sanguinolenta e peritonite

Clostridium tetani

Tétano generalizado: espasmo muscular generalizado e envolvimento do sistema nervoso autônomo em casos graves da doença (p.ex., arritmias cardíacas, flutuações da pressão arterial, sudorese profunda, desidratação)

Tétano localizado: espasmo muscular restrito à área da infecção primária

Tétano neonatal: infecção neonatal envolvendo primariamente o cordão umbilical; taxa de mortalidade muito elevada

Clostridium botulinum

Botulismo alimentar: inicialmente visão turva, boca seca, constipação intestinal e dor abdominal; progressão para fraqueza descendente da musculatura periférica com paralisia flácida

Botulismo infantil: inicialmente sintomas inespecíficos (p.ex., constipação, choro fraco, atraso de crescimento), que progridem para paralisia flácida e parada respiratória

Botulismo de feridas: quadro clínico semelhante ao da doença de origem alimentar, com período de incubação mais longo e sintomas gastrointestinais mais brandos

Botulismo por inalação: a inalação da toxina botulínica ocasiona rápido início de sintomas (paralisia flácida, insuficiência pulmonar) e alta mortalidade

Clostridium difficile (Caso Clínico 30-1)

Fisiologia e Estrutura

O *C. difficile* é um bacilo anaeróbio grande (0,5 a 1,9 por 3,0 a 17 μm) que forma livremente esporos *in vivo* e em cultura. O organismo cresce de modo rápido em cultura, ainda que as células vegetativas morram rapidamente quando expostas ao oxigênio. O *C. difficile* produz uma variedade de ácidos graxos voláteis que produzem um odor característico a "galinheiro" em cultura.



Caso Clínico 30-1 Colite por Clostridium difficile

Limaye et al. (*J Clin Microbiol* 38:1696, 2000) apresentaram um caso clássico da doença por *C. difficile* em um homem de 60 anos que recebeu um fígado transplantado 5 anos antes da sua admissão hospitalar para avaliação de dor abdominal tipo cólica e diarreia grave. Três semanas antes da admissão, recebeu um ciclo de 10 dias de trimetoprim-sulfametoxazol oral para a sinusite. Ao exame físico, o paciente estava febril e tinha sensibilidade abdominal moderada. A tomografia computadorizada abdominal revelou espessamento do cólon direito, mas não abscesso. A colonoscopia revelou numerosas placas esbranquiçadas e mucosa eritematosa friável consistente com a colite pseudomembranosa. A terapêutica empírica com metronidazol oral e levofloxacina intravenosa foi iniciada. Um imunoensaio fecal para a toxina A do *C. difficile* foi negativo, mas toxina do *C. difficile* foi detectada tanto no ensaio cultural como no de citotoxicidade (a apresentação do filtrado de fezes provoca citotoxicidade nas culturas celulares que é neutralizada por antissoros específicos contra as toxinas de *C. difficile*). A terapia foi alterada para vancomicina oral, e o paciente respondeu com resolução da diarreia e dor abdominal. Este é um exemplo de doença grave por *C. difficile* após exposição aos antibióticos em um paciente imunocomprometido, com uma apresentação característica da colite pseudomembranosa. Os problemas de diagnóstico com imunoensaios são bem conhecidos e agora foram substituídos por ensaios de reação em cadeia com polimerase, que têm como alvo os genes de toxina. O tratamento com metronidazol é atualmente preferido, embora a vancomicina seja uma alternativa aceitável.

Patogênese e Imunidade

C. difficile produz duas toxinas: uma enterotoxina (toxina A) e uma citotoxina (toxina B). A enterotoxina é quimiotática para neutrófilos, estimulando a infiltração de neutrófilos polimorfonucleares no íleo, com liberação de citocinas. A toxina A também tem efeito citopático, resultando no rompimento da junção célula-célula e aumentando a permeabilidade da parede intestinal com subsequente diarreia. A citotoxina acarreta despolimerização de actina com a destruição do citoesqueleto celular, tanto in vivo quanto in vitro. Embora ambas as toxinas aparentem interagir sinergicamente na patogênese, isolados que não produzem a enterotoxina A podem causar a doença. Além disso, a produção isolada de uma ou ambas as toxinas parece não ser suficiente para doença (p.ex., a presença de C. difficile e altos níveis de toxinas são comuns em crianças jovens, apesar de a doença ser rara). As "proteínas bacterianas de superfície" são importantes para a ligação da bactéria ao epitélio intestinal, resultando em produção localizada de toxinas e dano tecidual.

Epidemiologia

C. difficile é parte da microbiota intestinal normal de um número pequeno de pessoas saudáveis e pacientes hospitalizados. Em contraste com a crença original de que a doença inicial do C. difficile era restrita a pacientes hospitalizados, é agora reconhecido que uma proporção significativa de indivíduos com doença por C. difficile desenvolve doença sintomática fora do hospital. Para a maioria desses pacientes, há uma história recente de exposição a uma unidade de saúde onde foram supostamente expostos a C. difficile, e ao uso de antibióticos. A doença se desenvolve em pessoas submetidas à antibioticoterapia, pois o fármaco altera a microbiota entérica normal, tanto permitindo o crescimento desses organismos relativamente resistentes, como tornando o paciente mais suscetível à aquisição exógena de C. difficile. A doença ocorre quando a bactéria prolifera no cólon e produz toxinas.

Doenças Clínicas (Quadro 30-1)

Até meados da década de 1970, a importância clínica de *C. difficile* não era reconhecida. Esse organismo era raras vezes isolado de coproculturas, e o papel em doenças humanas era desconhecido. Entretanto, estudos sistemáticos recentes mostram claramente que *C. difficile*, produtor de toxina, é responsável por doenças gastrointestinais associadas a antibióticos, variando de diarreia autolimitada, relativamente benigna, até colite pseudomembranosa grave e potencialmente letal (Figs. 30-1 e 30-2).

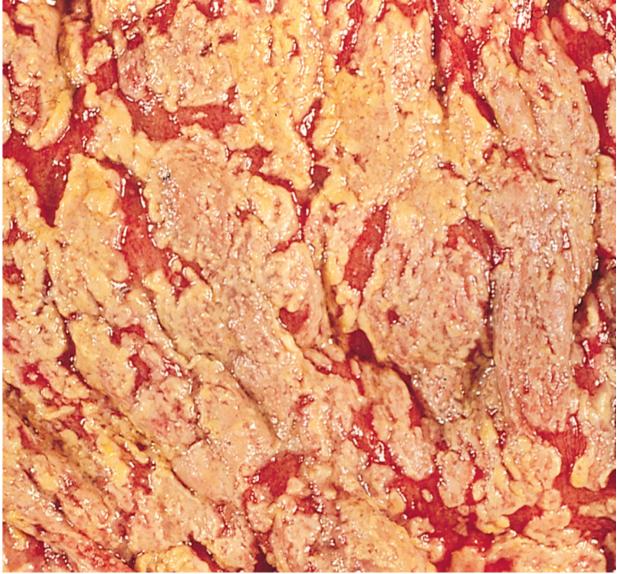


FIGURA 30-1 Colite associada a antibióticos: plano total do lúmen do cólon. Observe as placas brancas de fibrina, muco e células inflamatórias sobrepondo-se à mucosa intestinal normal vermelha.



FIGURA 30-2 Colite associada a antibióticos causada por *Clostridium difficile*. Corte histológico do cólon mostra resposta inflamatória intensa, com "placa" característica (*seta preta*) recobrindo a mucosa intestinal intacta (*seta branca*) (coloração por hematoxilina e eosina). (De Lambert HP, Farrar WE, editors: *Infectious diseases illustrated*, London, 1982, Gower.)

Em 2003, a doença causada por uma cepa altamente virulenta de *C. difficile* foi relatada em hospitais e comunidades no Canadá, nos Estados Unidos e na Europa. Essa cepa é responsável por uma doença mais grave, com alta taxa de mortalidade, elevação do risco de recaída e outras complicações. O aumento da virulência dessa cepa é o resultado de uma mutação no gene que regula a produção de enterotoxina e citotoxina. Como o gene regulador não é funcional, ocorre **aumento significativo na produção da toxina**. Essa nova cepa de *C. difficile* também produz outra toxina, que é binária, serve como um marcador útil para essa cepa e tem sido demonstrada como uma facilitadora da aderência da bactéria à superfície da célula epitelial. Ao contrário da maioria dos isolados de *C. difficile*, essa cepa é resistente à fluoroquinolona. Acredita-se que a ampla utilização das fluoroquinolonas na comunidade e em hospitais tenha levado à seleção dessa cepa virulenta.

Diagnóstico Laboratorial

O isolamento de *C. difficile* em cultura de fezes documenta a colonização, mas não a doença. Assim, o diagnóstico da infecção tem sido confirmado pela demonstração da enterotoxina ou citotoxina em amostras de fezes de pacientes com sintomas clínicos compatíveis ou detecção dos genes da toxina diretamente do material clínico, por técnicas de amplificação do ácido nucleico. Testes comerciais com altas sensibilidade e especificidade, que ofereçam resultados em poucas horas após a coleta do material, estão atualmente disponíveis.

Tratamento, Prevenção e Controle

Geralmente, a interrupção do antibiótico implicado (p.ex., ampicilina, clindamicina, fluoroquinolonas) é suficiente para aliviar a doença leve. No entanto, tratamento específico com **metronidazol** ou **vancomicina** é necessário para casos de diarreia grave ou colite. Recidivas após o término da terapia podem ocorrer em 20% a 30% dos pacientes, pois apenas as formas vegetativas de *C. difficile* são mortas pelos antimicrobianos; os esporos são resistentes. A repetição do tratamento com o mesmo antibiótico frequentemente é bem-sucedida, ainda que várias recaídas sejam bem documentadas em alguns pacientes. Uma nova abordagem para tratar a doença recorrente consiste em infundir conteúdo fecal de um doador saudável ("rePOOPulate", *repovoar*) para dentro do intestino do indivíduo doente. O notável sucesso com estes "transplantes fecais" foi demonstrado, o que ilustra o fato de que o *C. difficile* não se estabelece quando uma população saudável de bactérias entéricas está presente. A doença é de difícil prevenção, porque o organismo está presente em hospitais, em especial nas áreas adjacentes aos pacientes infectados (p.ex., camas, banheiros). Os esporos de *C. difficile* são difíceis de eliminar, a menos que medidas de limpeza completa sejam utilizadas. Assim, o organismo pode contaminar um ambiente por muitos meses, podendo ser importante fonte de surtos nosocomiais da doença causada por *C. difficile*.

Clostridium perfringens

Fisiologia e Estrutura

C. perfringens é um bacilo Gram-positivo grande (0,6 a 2,4 × 1,3 a 19 μm), retangular (Fig. 30-3) **e com esporos raramente observados**, seja *in vivo* ou após o cultivo *in vitro*, uma característica importante que diferencia essa espécie da maioria dos outros clostrídios. As colônias de *C. perfringens* também são distintas, com crescimento rápido, espalhado e produção de beta-hemólise em meios com sangue (Fig. 30-4). Os isolados de *C. perfringens* são subdivididos em cinco tipos (A até E), de acordo com a produção de uma ou mais toxinas "letais" (toxinas alfa, beta, épsilon e iota).

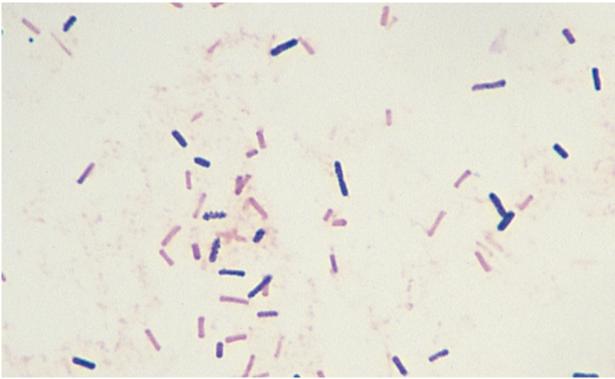


FIGURA 30-3 Coloração de Gram de *Clostridium perfringens* em amostra de ferida. Observe a forma retangular dos bacilos, a presença de diversos bacilos descorados parecendo Gram-negativos, e a ausência de esporos e células sanguíneas.

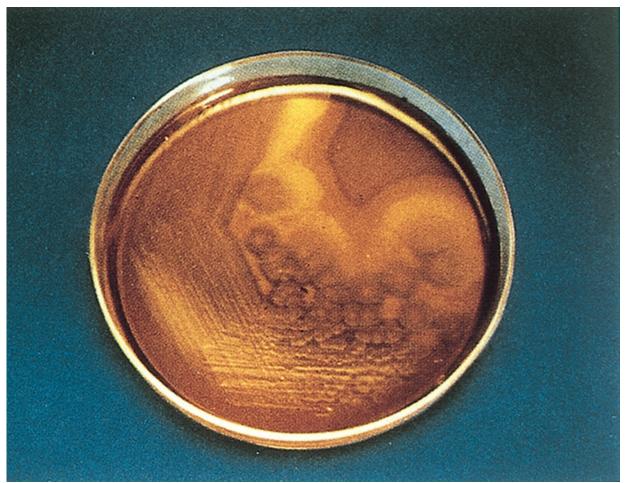


FIGURA 30-4 Crescimento de Clostridium perfringens em ágar-sangue de carneiro. Observe as colônias planas e espalhadas e a atividade hemolítica do organismo. A identificação presuntiva de C. perfringens pode ser feita pela detecção de uma zona de hemólise total (causada pela toxina teta) e uma zona mais larga de hemólise parcial (provocada pela toxina alfa), juntamente com a morfologia microscópica característica.

Patogênese e Imunidade

Toxina alfa, produzida por todos os cinco tipos de *C. perfringens*, é uma lecitinase (fosfolipase C) que lisa eritrócitos, plaquetas, leucócitos e células endoteliais. Essa toxina provoca hemólise massiva, aumento da permeabilidade vascular e hemorragia (agravada pela destruição de plaquetas), destruição tecidual, toxicidade hepática e disfunção miocárdica (bradicardia, hipotensão). A **toxina beta** é responsável por estase intestinal, perda de mucosa com formação de lesões necróticas e progressão de enterite necrosante. A **toxina épsilon** é uma pró-toxina ativada pela tripsina e aumenta a permeabilidade vascular da parede gastrointestinal. **Toxina iota**, produzida por *C. perfringens* tipo E, tem atividade necrótica e aumenta a permeabilidade vascular.

O *C. perfringens* produz **enterotoxinas**, principalmente por estirpes do tipo A, cuja atividade é aumentada pela exposição à tripsina. A enterotoxina é produzida durante a transição de fase a partir de células vegetativas para esporos e é liberada no ambiente alcalino do intestino delgado, quando as células sofrem a fase terminal de formação de esporos (**esporulação**). A enterotoxina liberada liga-se aos receptores nas microvilosidases da membrana das células epiteliais do intestino delgado, íleo (principalmente) e jejuno, mas não no duodeno. A inserção da toxina na célula acarreta alteração da permeabilidade e perda de fluidos e íons. A enterotoxina também atua como um superantígeno, simulando atividade de linfócitos T.

Epidemiologia

C. perfringens tipo A é habitante comum do trato intestinal humano e de outros animais, e é amplamente distribuído na natureza, especialmente em **solo e água contaminados com fezes**. Esporos são formados sob condições ambientais adversas e podem sobreviver por longos períodos. As cepas dos tipos B a E não sobrevivem no solo, mas colonizam o trato intestinal de animais e, ocasionalmente, de seres humanos. C. perfringens, em particular o tipo A, é responsável por uma variedade de doenças, incluindo infecções em tecidos moles, intoxicação alimentar, enterite necrotizante e septicemia.

Doenças Clínicas (Quadro 30-1)

O *C. perfringens* é responsável por uma variedade de infecções dos tecidos moles, incluindo **celulite** (Fig. 30-5), fascite ou **miosite** supurativa, e **mionecrose** com formação de gás no tecido mole (gangrena gasosa). A mionecrose clostridiana é mais comumente causada por *C. perfringens*, embora outras espécies (p.ex., *C. septicum*, *C. histolyticum*, *C. novyi*) também

possam produzir essa doença. Com esta, há perigo de morte, que ilustra o enorme potencial de virulência de clostrídios histotóxicos. O início da doença, caracterizada por dor intensa, geralmente ocorre dentro de 1 semana após a introdução do clostrídio nos tecidos, por trauma ou cirurgia. O início é rapidamente seguido de extensa necrose muscular, choque, falência renal e morte, muitas vezes 2 dias após a manifestação inicial. O exame macroscópico do músculo revela tecido necrótico morto. O gás encontrado no tecido é causado pela atividade metabólica das bactérias que se multiplicam de maneira rápida (daí o nome gangrena gasosa). O exame microscópico de tecido ou exsudato corado pelo Gram revela numerosos bacilos Gram-positivos retangulares e ausência de células inflamatórias (em razão da lise por toxinas clostridiais). As toxinas clostridiais, caracteristicamente, ocasionam hemólise extensa e sangramento.



Celulite por clostrídios. Clostrídios podem penetrar o tecido durante cirurgia ou por lesão FIGURA 30-5 traumática. Este paciente sofreu fratura composta da tíbia. Cinco dias após a lesão, a pele se tornou descorada com desenvolvimento de bolhas e necrose. Estavam presentes exsudato serossanguinolento e gás subcutâneo, mas sem evidência de necrose muscular. O paciente teve recuperação sem intercorrências. (De Lambert H, Farrar W, editors: Infectious diseases ilustrated, London, 1982, Gower.)

Envenenamento alimentar por clostrídios (Caso Clínico 30-2), uma intoxicação relativamente comum, mas subestimada, é caracterizada por: (1) curto período de incubação (8 a 12 horas); (2) apresentação clínica com cólicas abdominais e diarreia aquosa, sem febre, náuseas ou vômitos; e (3) curso clínico com duração de menos de 24 horas. A doença resulta da ingestão de carne (p.ex., boi, frango, peru, molhos) contaminada com grande número (108 a 109 células) de C. perfringens, produtor de enterotoxina tipo A. O armazenamento de alimentos contaminados em temperatura inferior a 60°C (46°C é ideal) permite que os esporos sobreviventes ao processo de cozimento germinem e se multipliquem em grande número. A rápida refrigeração dos alimentos após a preparação previne o crescimento bacteriano. Alternativamente, o reaquecimento do alimento a 74°C pode destruir as enterotoxinas termolábeis.

O Centers for Disease Control and Prevention descreveu um surto de gastroenterite por *C. perfringens* associado a ingestão de carne em conserva servida na celebração do dia de São Patrício (*MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 43:137, 1994). Em 18 de março de 1993, o Departamento de Saúde da Cidade de Cleveland recebeu telefonemas de 15 pessoas que adoeceram após comerem carne em conserva comprada em uma *delicatessen*. Após a divulgação pública do surto, 156 pessoas contataram o Departamento de Saúde com histórias semelhantes. Além de diarreia, 88% das pessoas queixaramse de cólicas abdominais e 13% de vômitos, que tiveram início, em média, 12 horas após a ingestão da carne suspeita. Uma investigação revelou que a loja havia comprado 636 quilos de carne crua salgada e, começando em 12 de março, as porções da carne em conserva foram fervidas por 3 horas, deixadas esfriar à temperatura ambiente e então refrigeradas. Nos dias 16 e 17 de março, a carne foi retirada da geladeira, aquecida a 48,8°C e servida. Nas culturas da carne, houve crescimento de 10⁵ colônias de *C. perfringens* por grama. O Departamento de Saúde recomendou que, se a carne não pudesse ser servida imediatamente após o cozimento, deveria ter sido rapidamente resfriada em gelo e refrigerada. Além disso, antes de ser servida, a carne deveria ter sido aquecida a pelo menos 74°C para destruir a enterotoxina termossensível.

Enterite necrotizante (também chamada necrosante ou doença de pig-bel) é uma doença rara, com processo necrosante agudo no jejuno, caracterizada por dores abdominais agudas, vômitos, diarreia sanguinolenta, ulceração do intestino delgado e perfuração da parede intestinal, ocasionando peritonite e choque. A mortalidade em pacientes com essa infecção chega a 50%. A toxina beta produzida por *C. perfringens* tipo C é responsável por essa doença. Enterite necrotizante é mais comum em Papua-Nova Guiné, com relatos esporádicos de casos em outros países. Isso resulta dos hábitos alimentares da população, em que a doença pode se seguir ao consumo de carne de porco malcozida contaminada e batata-doce. Este legume contém um inibidor de tripsina resistente ao calor que protege a inativação da toxina beta pela tripsina. Outros fatores de risco para a doença são a exposição a grande número de organismos e má nutrição (com perda da atividade proteolítica que inativa a toxina).

O isolamento de *C. perfringens* e de outras espécies de clostrídios em cultura de sangue pode ser alarmante; no entanto, mais da metade dos isolados não tem significado clínico, representando uma bacteremia transitória ou, mais provavelmente, contaminação da cultura por clostrídios colonizadores da pele. Os pacientes com **septicemia** clinicamente significativa complicando outras infecções (p.ex., mionecrose, enterite necrosante) apresentam-se tipicamente de forma dramática, com hemólise maciça e choque séptico avassalador.

Diagnóstico Laboratorial

O laboratório realiza apenas papel confirmatório no diagnóstico de doenças clostridiais de tecidos moles, porque a terapia deve ser iniciada imediatamente. A observação microscópica de bacilos Gram-positivos em amostras clínicas, em geral na ausência de leucócitos, pode ser um achado muito útil em decorrência da morfologia característica desses organismos. Também é relativamente simples cultivar esses anaeróbios. Sob condições adequadas, *C. perfringens* se divide a cada 8 a 10 minutos, portanto o crescimento em ágar ou em caldo de cultura de sangue pode ser detectado algumas horas após a incubação. O papel de *C. perfringens* na intoxicação alimentar é documentado pelo isolamento de mais de 10⁵ células por grama de alimento, ou mais de 10⁶ bactérias por grama de fezes coletadas até 1 dia após o aparecimento da doença. Também foram desenvolvidos imunoensaios para a detecção de enterotoxinas em amostras fecais; entretanto, o diagnóstico de envenenamento alimentar é clínico e geralmente não são realizados culturas ou imunoensaios.

Tratamento, Prevenção e Controle

Infecções por *C. perfringens* em tecidos moles, como miosite supurativa e mionecrose, devem ser tratadas agressivamente com **desbridamento cirúrgico** e **alta dose de penicilina**. Tratamento hiperbárico com oxigênio tem sido utilizado para controlar essas infecções; porém, os resultados não são conclusivos. Apesar de todos os esforços terapêuticos, o prognóstico em pacientes com essas doenças é pobre, com relatos de mortalidade variando de 40% até quase 100%. As infecções localizadas em tecidos moles são menos graves e podem ser efetivamente tratadas com desbridamento e penicilina.

A intoxicação alimentar clostridiana é tratada por reidratação oral e, em casos graves, fluidos e eletrólitos intravenosos. Não é recomendada terapia com antibiótico uma vez que a doença é autolimitada (i.e., a diarreia lava os clostrídios para fora do intestino, e a microbiota intestinal normal se restabelece por si só).

É difícil evitar a exposição a *C. Perfringens*, pois o organismo é ubíquo. A doença requer a introdução do organismo em tecidos desvitalizados e manutenção de um ambiente anaeróbio, favorável ao crescimento bacteriano. Assim, cuidados adequados com as feridas e utilização criteriosa de antibióticos profiláticos podem ser muito eficazes para evitar a maioria das infecções.

Clostridium tetani

Fisiologia e Estrutura

C. tetani é um bacilo grande (0,5 a 2 × 2 a 18 µm), formador de esporos e móvel. Produz esporos terminais arredondados, semelhantes a uma raquete. Diferentemente de C. perfringens, C. tetani é difícil de cultivar por ser extremamente sensível ao

oxigênio; quando é detectado crescimento em meio sólido, se apresenta como um filme sobre a superfície do ágar, em vez de colônias definidas. Essa bactéria é proteolítica, mas incapaz de fermentar carboidratos.

Patogênese e Imunidade

Embora as células vegetativas de *C. tetani* morram rapidamente quando expostas ao oxigênio, a formação de esporos permite ao organismo sobreviver nas condições mais adversas. A produção de duas toxinas por *C. tetani*, uma hemolisina sensível ao oxigênio (**tetanolisina**) e uma neurotoxina termolábil codificada por plasmídeos (**tetanoespasmina**) tem grande significado. O plasmídeo com o gene da tetanoespasmina não é conjugativo, assim uma cepa não tóxica de *C. tetani* não pode ser transformada em toxigênica. A tetanolisina é sorologicamente relacionada com estreptolisina O e com hemolisinas de *C. perfringens* e *Listeria monocytogenes*; entretanto, seu significado clínico é desconhecido, porque a tetanolisina é inibida pelo oxigênio e pelo colesterol do soro.

A tetanoespasmina, responsável pelas manifestações clínicas do tétano, é produzida durante a fase estacionária do crescimento, sendo liberada para o meio quando a célula é lisada. A tetanoespasmina (uma toxina A-B) é sintetizada como um único peptídeo com 150.000 Da, que é clivado por uma protease endógena, quando a célula libera a neurotoxina em uma subunidade leve (cadeia A) e em uma subunidade pesada (cadeia B). Pontes dissulfeto e forças não covalentes mantêm as duas cadeias unidas. O domínio de ligação da porção terminal carboxil da cadeia pesada (100.000 Da), liga-se a receptores específicos de ácido siálico (p.ex., polissialogangliosídios) e a glicoproteínas adjacentes na superfície de neurônios motores. As moléculas intactas da toxina são internalizadas nas vesículas endossômicas e transportadas nos axônios neurais para o corpo dos neurônios motores, localizados na medula espinal. Nesse local, o endossomo torna-se acidificado, resultando em uma mudança conformacional no domínio N-terminal da cadeia pesada, inserção na membrana do endossomo e passagem da cadeia leve para o citoplasma da célula. A cadeia leve é uma zinco endopeptidase que cliva proteínas do núcleo envolvidas no transporte e liberação de neurotransmissores. Especificamente, a tetanoespasmina inativa proteínas que regulam a liberação dos neurotransmissores inibitórios, glicina e ácido gama-aminobutírico (GABA). Essa inativação acarreta desregulação da atividade excitatória sináptica nos neurônios motores, resultando em paralisia espástica. A ligação da toxina é irreversível, portanto a recuperação depende da formação de novos axônios terminais.

Epidemiologia

C. tetani é **ubíquo**. É encontrado em solos férteis e coloniza transitoriamente o trato GI de muitos animais, incluindo o homem. As formas vegetativas de *C. tetani* são extremamente sensíveis ao oxigênio, mas o organismo esporula rápido e pode sobreviver por muito tempo na natureza. A doença é relativamente rara nos Estados Unidos em razão da alta incidência de imunidade induzida por vacina. Apenas 36 casos foram relatados em 2011 e a doença ocorre sobretudo em pacientes idosos com imunidade reduzida. No entanto, o tétano ainda é responsável por muitas mortes em países em desenvolvimento, onde a vacinação não está disponível ou há carência de atendimento médico. Estima-se que mais de 1 milhão de casos ocorram no mundo, com taxa de mortalidade variando entre 30% e 50%. Pelo menos metade das mortes acontece em recém-nascidos.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 30-3; Quadro 30-1)

O período de incubação do tétano varia de poucos dias a semanas. Sua duração está diretamente relacionada com a distância entre a infecção primária e o sistema nervoso central.



Caso Clínico 30-3 Tétano

A história é típica de um paciente com tétano (CDC, MMWR Morb Mortal Wkly Rep 51:613-615, 2002). Um homem com 86 anos procurou um médico para cuidar de ferida provocada por uma farpa na mão direita, adquirida 3 dias antes, enquanto trabalhava no jardim. Ele não tinha sido tratado com a vacina contra o toxoide tetânico nem com a imunoglobulina tetânica. Sete dias depois, ele desenvolveu faringite e, 3 dias depois disso, procurou o hospital local com dificuldade de fala, deglutição, respiração, e com dor torácica e desorientação. O paciente foi hospitalizado com diagnóstico de derrame. No quarto dia de hospitalização, ele desenvolveu rigidez no pescoço e falência respiratória, necessitando de traqueostomia e ventilação mecânica. O paciente foi transferido para a unidade de tratamento intensivo, na qual o diagnóstico clínico de tétano foi feito. Apesar do tratamento com toxoide tetânico e imunoglobulina, o paciente faleceu 1 mês após sua entrada no hospital. Este caso ilustra que Clostridium tetani é ubíquo no solo e pode contaminar ferimentos relativamente pequenos; também ilustra a progressão implacável de doença neurológica em pacientes não tratados.

O **tétano generalizado** é a forma mais comum. Na maioria dos pacientes ocorre envolvimento dos músculos masseteres (trismo mandibular). O sorriso sardônico característico que resulta da contração sustentada da musculatura facial é conhecido como *riso sardônico* (Fig. 30-6). Outros sinais precoces são salivação, sudorese, irritabilidade e espasmos dorsais

persistentes (*opistótonos*) (Fig. 30-7). Em pacientes com doença mais grave, o sistema nervoso autônomo é envolvido; os sinais e sintomas incluem arritmia cardíaca, flutuações da pressão arterial, sudorese profunda e desidratação.



FIGURA 30-6 Espasmo facial e riso sardônico em um paciente com tétano. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: Infectious diseases, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)



FIGURA 30-7 Criança com tétano e opistótonos resultantes de espasmos persistentes dos músculos dorsais. (De Emond RT, Rowland HAK, Welsby P: Colour atlas of infectious diseases, ed 3, London, 1995, Wolfe.)

Outra forma de doença por *C. tetani* é o **tétano localizado**, no qual a doença fica confinada à musculatura local da infecção primária. Uma variação é o **tétano cefálico**, no qual o local primário de infecção é a cabeça. Em contraste com o prognóstico de pacientes com tétano localizado, o prognóstico de pacientes com tétano cefálico é muito sombrio.

Tétano neonatal (*tetanus neonatorum*) é tipicamente associado a infecção inicial no cordão umbilical que progride até tornar-se generalizada. A mortalidade em crianças ultrapassa 90% e defeitos de desenvolvimento estão presentes nos sobreviventes. Essa doença é quase exclusiva de países em desenvolvimento.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de tétano, como ocorre na maioria das doenças por clostrídios, é feito com base na apresentação clínica. A detecção microscópica de *C. tetani* ou o isolamento em cultura é útil, mas com frequência malsucedido. Resultados de cultura são positivos em apenas 30% dos pacientes com tétano, porque a infecção pode ser causada por poucas células, e a bactéria, de crescimento lento, pode ser inviabilizada rapidamente quando exposta ao ar. Nem a toxina tetânica nem anticorpos contra a toxina são detectáveis nos pacientes, pois a toxina se liga rapidamente aos neurônios motores e é internalizada. Se o organismo é isolado em cultura, a produção de toxina pode ser confirmada pelo teste de neutralização com a antitoxina em camundongos (um procedimento realizado apenas em laboratórios de referência de saúde pública).

Tratamento, Prevenção e Controle

A mortalidade associada a tétano diminuiu constantemente no século passado, em grande parte em consequência da diminuição da incidência de tétano nos Estados Unidos. A mortalidade é mais elevada nos recém-nascidos e em pacientes com período de incubação inferior a 1 semana.

O tratamento do tétano requer **desbridamento** da ferida primária (que pode parecer inócua), administração de **penicilina** ou **metronidazol** para matar a bactéria, **imunização passiva** com imunoglobulina tetânica humana para neutralizar toxinas não ligadas, e **vacinação** com toxoide tetânico (porque a infecção não confere imunidade). Metronidazol e penicilina apresentam atividades equivalentes contra *C. tetani*; no entanto, a penicilina, como a tetanospasmina, inibe a atividade do GABA, que pode produzir excitabilidade do sistema nervoso central. A toxina ligada às terminações nervosas é protegida da ação dos anticorpos, assim, os efeitos tóxicos devem ser controlados sintomaticamente até a restauração da transmissão sináptica. Vacinação com três doses de toxoide tetânico, seguida de doses de reforço a cada 10 anos, é altamente eficaz na prevenção do tétano.

Clostridium botulinum

Fisiologia e Estrutura

Os agentes etiológicos do botulismo formam uma coleção heterogênea de bacilos anaeróbios grandes (0,6 a 1,4 × 3,0 a 20,2 µm), fastidiosos e formadores de esporos. Com base em propriedades fenotípicas e genéticas, essa bactéria é subdividida em quatro grupos que certamente representam quatro espécies distintas, embora tenham sido historicamente classificadas em uma única espécie, *C. botulinum*. Sete toxinas botulínicas (A a G) antigenicamente distintas foram descritas; a doença humana está associada a tipos A, B, E e F. Outras espécies de clostrídios produzem toxinas botulínicas, incluindo *C. butyricum* (toxina tipo E), *C. baratii* (toxina tipo F) e *C. argentinense* (toxina tipo G). Doenças humanas raramente têm sido associadas a *C. butyricum* e *C. baratii* e, de maneira definitiva, não associadas a *C. argentinense*.

Patogênese e Imunidade

De modo semelhante à toxina tetânica, a toxina de *C. botulinum* é um precursor com 150.000 Da (toxina A-B), constituído por uma subunidade pequena (cadeia leve ou A) com atividade de **zinco endopeptidase** e uma subunidade não tóxica maior (cadeia pesada ou B). Em contraste com a neurotoxina tetânica, a toxina botulínica é complexa, com proteínas não tóxicas que protegem a neurotoxina durante a passagem pelo trato digestivo (o que é desnecessário para neurotoxina tetânica). A porção carboxi-terminal da cadeia pesada da toxina se liga especificamente a receptores de ácido siálico e glicoproteínas (diferentes das que são alvos da tetanospasmina) na superfície dos neurônios motores e estimula a endocitose da molécula de toxina. Ainda em contraste com a tetanospasmina, a neurotoxina botulínica permanece na junção neuromuscular. A acidificação do endossomo estimula a porção N-terminal da cadeia pesada a liberar a cadeia leve. A endopeptidase botulínica, então, **inativa as proteínas que regulam a liberação de acetilcolina**, bloqueando a neurotransmissão nas sinapses colinérgicas periféricas. Já que a acetilcolina é necessária para a excitação dos músculos, a apresentação clínica resultante é uma **paralisia flácida**. Como no tétano, a recuperação dessa função após o botulismo exige regeneração das terminações nervosas.

Epidemiologia

C. botulinum é comumente isolado de amostras de solo e água em todo o mundo. Nos Estados Unidos, cepas do tipo A são encontradas sobretudo em solos neutros ou alcalinos a oeste do rio Mississipi; as cepas tipo B são encontradas, sobretudo, em solos orgânicos ricos na parte oriental do país, e as cepas do tipo E são encontradas apenas em solo úmido. Embora C. botulinum seja comumente encontrada no solo, a doença é incomum nos Estados Unidos.

Foram identificadas quatro formas de botulismo: (1) botulismo clássico ou alimentar; (2) botulismo infantil; (3) botulismo de ferimento; e (4) botulismo por inalação. Nos Estados Unidos, menos de 25 casos de **botulismo alimentar** são observados por ano, a maioria associada a consumo de conservas caseiras (toxinas tipos A e B) e ocasionalmente pelo consumo de conservas de peixe (toxina tipo E). A comida pode não parecer deteriorada, mas até uma pequena prova desta pode causar o desenvolvimento completo da doença clínica. **Botulismo infantil** é mais comum (apesar de < 100 casos por ano serem notificados) e tem sido associado a consumo de alimentos (p.ex., mel, leite em pó infantil) e ingestão de solo e poeira contaminados com esporos (atualmente, a fonte mais comum de exposição infantil). A incidência de **botulismo por ferimentos** é desconhecida, mas a doença é muito rara. **Botulismo por inalação** é a principal preocupação da era do bioterrorismo. A toxina botulínica tem sido concentrada para a utilização como arma biológica em forma de aerossol. Quando administrada dessa maneira, a doença por inalação tem início rápido e mortalidade potencialmente alta.

Doenças Clínicas (Quadro 30-1)

Pacientes com botulismo alimentar (Caso Clínico 30-4) tipicamente ficam enfraquecidos e com tonturas 1 a 3 dias após consumir o alimento contaminado. Os sinais iniciais incluem visão turva, com pupilas fixas e dilatadas, boca seca (indicativa dos efeitos anticolinérgicos da toxina), constipação e dor abdominal. Não apresentam febre. Ocorre desenvolvimento de fraqueza descendente bilateral dos músculos periféricos, com doença progressiva (paralisia flácida), e a morte em geral é atribuída à paralisia respiratória. Os pacientes mantêm o estado mental claro durante toda a doença. Apesar do tratamento agressivo, a doença pode continuar a progredir, porque a neurotoxina é irreversivelmente ligada e inibe a liberação de neurotransmissores excitatórios por tempo prolongado. A recuperação completa dos pacientes com frequência requer muitos meses a anos, ou até que as terminações nervosas afetadas se regenerem. O tratamento de suporte mais apropriado, em especial o manejo das complicações respiratórias, reduziu a mortalidade em pacientes com botulismo alimentar de cerca de 70% para 5% a 10%.



Caso Clínico 30-4 Botulismo Alimentar com Suco de Cenoura Comercial

O Centers for Disease Control and Prevention descreveu um surto de botulismo de origem alimentar associado a suco de cenoura contaminado (*MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 55:1098, 2006). Em 8 de setembro de 2006, três pacientes foram a um hospital em Washington County, Georgia, com paralisia dos nervos cranianos e paralisia flácida descendente progressiva resultando em insuficiência respiratória. Eles tinham partilhado refeições no dia anterior. Como houve suspeita de botulismo, os pacientes foram tratados com a antitoxina botulínica. Eles não tiveram progressão de sintomas neurológicos, mas permaneceram hospitalizados e sob ventilação mecânica. Uma investigação verificou que eles haviam consumido suco de cenoura comercial contaminado. Toxina botulínica tipo A foi detectada no soro e nas fezes dos três pacientes, bem como no que restou do suco de cenoura. Outro paciente também foi internado com insuficiência respiratória e paralisia descendente após beber suco de cenoura comercial na Flórida. Em virtude de o suco de cenoura apresentar baixa acidez (pH 6), os esporos de *C. botulinum* podem germinar e produzir toxinas se o suco contaminado for mantido à temperatura ambiente.

O **botulismo** infantil (Caso Clínico 30-5) foi reconhecido pela primeira vez em 1976 e hoje é a forma mais comum de botulismo nos Estados Unidos. Em contraste com o botulismo alimentar, essa doença é causada por uma neurotoxina produzida *in vivo* por *C. botulinum* colonizante do trato GI de crianças. Embora os adultos sejam expostos ao organismo pela dieta, *C. botulinum* não consegue sobreviver e multiplicar-se em seus intestinos. Entretanto, na ausência de competição com a microbiota intestinal residente, a bactéria pode se estabelecer no trato GI de crianças. Tipicamente, a doença afeta crianças com menos de 1 ano (a maioria entre 1 e 6 meses) e inicialmente os sintomas não são específicos (p.ex., constipação, choro fraco ou "atraso no crescimento"). Doença progressiva, com paralisia flácida e interrupção da respiração, pode se manifestar; no entanto, a mortalidade em casos documentados é muito baixa (1% a 2%). Alguns óbitos infantis, atribuídos a outras condições (p.ex., síndrome de morte súbita do lactente) podem, na realidade, ter sido causados por botulismo.



Caso Clínico 30-5 Botulismo Infantil

Em janeiro de 2003, quatro casos de botulismo infantil foram descritos pelo Centers for Disease Control and Prevention (MMWR Morb Mortal Wkly Rep 52:24, 2003). O que se segue é o relato sobre uma das crianças. Uma criança com 10 semanas, apresentando histórico de constipação no primeiro mês de vida, foi admitida no hospital por ter dificuldade de sucção e deglutição por 2 dias. O bebê estava irritável e teve perda da expressão facial, fraqueza muscular generalizada e constipação. Em virtude de insuficiência respiratória, foi necessária a utilização de ventilação mecânica por 10 dias. O diagnóstico de botulismo infantil foi estabelecido 29 dias após o início dos sintomas, pela detecção de *C. botulinum* produtor de toxina tipo B em cultura de fezes com meios enriquecidos. O paciente foi tratado com imunoglobulina botulínica intravenosa (IGB-IV) e teve alta, totalmente recuperado, após 20 dias. Em contraste com o diagnóstico de botulismo alimentar, o diagnóstico de botulismo infantil pode ser realizado pela detecção da bactéria nas fezes de bebês.

O **botulismo de ferida** se desenvolve a partir da produção de toxina em feridas contaminadas. Ainda que os sintomas da doença sejam idênticos aos do botulismo alimentar, o período de incubação em geral é mais longo (4 dias ou mais), e os sintomas do trato GI são menos intensos.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico do botulismo alimentar é confirmado se a atividade da toxina é demonstrada no alimento implicado ou em soro, fezes ou líquido gástrico do paciente. Botulismo infantil é confirmado pela detecção da toxina nas fezes ou no soro da criança, ou pelo isolamento do organismo nas fezes. Botulismo de ferida é confirmado pela detecção da toxina no soro ou na ferida do paciente, ou ainda pelo crescimento em cultura inoculada com amostra da ferida. A atividade da toxina tem mais chance de ser detectada na fase inicial da doença. No botulismo alimentar, nenhum teste isolado tem sensibilidade superior a 60%; por outro lado, a toxina é detectada no soro de mais de 90% de crianças com botulismo.

O isolamento de *C. botulinum*, a partir de amostras contaminadas com outros organismos (p.ex., fezes, feridas), pode ser otimizado pelo aquecimento da amostra por 10 minutos a 80°C, para matar todas as bactérias não formadoras de esporos. A cultura da amostra tratada por calor em meio enriquecido, em condições anaeróbias, permite a germinação dos esporos termorresistentes de *C. botulinum*. A demonstração de produção da toxina (geralmente em laboratórios de saúde pública) deve ser feita por bioensaio em camundongo. Esse procedimento consiste na preparação de duas alíquotas do isolado, misturando uma alíquota com antitoxina, seguida da inoculação intraperitoneal das misturas em camundongo. Se o tratamento com antitoxina proteger o camundongo, a atividade da toxina é confirmada. Amostras de alimentos suspeitos, fezes e soro do paciente também devem ser testadas para a atividade da toxina.

Tratamento, Prevenção e Controle

Pacientes com botulismo necessitam as seguintes medidas de tratamento: (1) **suporte ventilatório** adequado; (2) eliminação do organismo do trato GI pela utilização criteriosa de lavagem gástrica e terapia com **metronidazol ou penicilina**; e (3) administração de **antitoxina botulínica trivalente** contra as toxinas A, B e E para neutralizar a toxina circulante na corrente sanguínea. Suporte ventilatório é extremamente importante na redução de mortalidade. A produção de anticorpos em níveis protetores não é observada após a doença, assim os pacientes permanecem suscetíveis a botulismo.

Previne-se a doença com a destruição dos esporos em alimentos (virtualmente impossível por questões práticas), prevenindo a germinação dos esporos (mantendo a comida em pH ácido ou armazenando a 4°C ou menos), ou pela destruição das toxinas pré-formadas (todas as toxinas botulínicas são inativadas por aquecimento nas temperaturas de 60°C a 100°C, por 10 minutos). Botulismo infantil tem sido associado a consumo de mel contaminado com esporos de *C. botulinum*, de modo que crianças menores de 1 ano não devem ingerir mel.

Outras Espécies de Clostrídios

Muitos outros clostrídios têm sido associados a doenças clinicamente significativas. A virulência desses organismos é resultado da capacidade de sobreviver à exposição ao oxigênio formando esporos e produzindo diversas toxinas e enzimas. *C. septicum* (Figs. 30-8 e 30-9) é um patógeno especialmente importante, porque produz mionecrose não traumática e, muitas vezes, existe em pacientes com câncer de cólon oculto, leucemia aguda ou diabetes. Se a integridade da mucosa intestinal for comprometida e o corpo do paciente tiver menor capacidade de responder eficientemente ao organismo, *C. septicum* pode se espalhar e proliferar de maneira rápida nos tecidos, produzindo gás e destruição tecidual (Fig. 30-10). Na maioria dos pacientes, a progressão é fulminante, causando óbito em 1 a 2 dias após a apresentação inicial. *C. sordellii* é relacionado com a síndrome de choque tóxico fatal, associada a parto natural ou aborto induzido (Caso Clínico 30-6). *C. tertium* é outro clostrídio importante, comumente isolado de amostras de solo. Este tem sido primariamente associado a infecções de ferida traumática (p.ex., ferida de guerra, queda causando ferida contaminada por solo). Esse organismo pode representar um desafio de diagnóstico, já que pode crescer em meio sólido incubado em condições aeróbias. A identificação correta pode ser feita pela observação de esporos e quando for determinado que os organismos crescem melhor em condições de anaerobiose.



FIGURA 30-8 Clostridium septicum: observe os esporos (setas) dentro dos bacilos.



FIGURA 30-9 Clostridium septicum: observe como o crescimento se espalha pela superfície da placa de ágarsangue (seta). Esse crescimento rápido espalhado também é característico da progressão rápida da doença em um paciente infectado.



FIGURA 30-10 Radiografia da perna de um paciente com mionecrose causada por *C. septicum*. Observe o gás (*setas*) no tecido.



Caso Clínico 30-6 Síndrome de Choque Tóxico por Clostridium

sordellii Associada a Abortos Médicos

A síndrome de choque tóxico fatal causada por *C. sordellii* foi associada a abortos médicos. Essa é uma descrição da doença (Fischer et at., *N Engl J Med* 353:2352-2360, 2005). Uma mulher de 22 anos, previamente saudável, passou por aborto médico induzido com 200 mg de mifepristona oral, seguidos de 800 mg de misoprostol por via vaginal. Cinco dias depois, a paciente procurou o departamento de emergência local com náuseas, vômitos, diarreia e fortes dores abdominais. Ela estava sem febre, taquicárdica e normotensa. No dia seguinte, a taquicardia (130 a 140 batimentos por minuto) permaneceu, ela se tornou hipotensa (pressão arterial, 80/40 mmHg) e apresentou diminuição do volume urinário. Os achados laboratoriais mostraram aumento na contagem de neutrófilos (reação leucemoide) e acidose metabólica grave. Foi realizada laparotomia de emergência que revelou edema generalizado dos órgãos abdominais e pélvicos, e um litro de líquido peritoneal seroso. A paciente morreu durante o procedimento, 23 horas após a apresentação inicial. O exame histopatológico do útero demonstrou inflamação extensa, formação de abscesso, edema, necrose e hemorragia. Numerosos bacilos Gram-positivos foram observados no endométrio, e o DNA de *C. sordellii* foi demonstrado no tecido uterino por testes de PCR específicos. Embora incomuns, endometrite e síndrome do choque tóxico causada por *C. sordellii* são complicações bem documentadas em partos naturais e abortos induzidos. Característica dessa doença é o curso fulminante sem apresentação de febre e leucocitose.

Referências Bibliográficas

Aronoff D. Clostridium novyi, sordellii, and tetani: mechanisms of disease. Anaerobe. 2013;24:98-101.

Bauer M, Kuijper E, van Dissel J. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15:1067–1079.

Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infect Contr Hosp Epidemiol*. 2010;31:431–455.

Curry S. Clostridium difficile. Clin Lab Med. 2010;30:329–342.

- Fischer M, Bhatnagar J, Guarner J, et al. Fatal toxic shock syndrome associated with *Clostridium sordellii* after medical abortion. *N Engl J Med*. 2005;353:2352–2360.
- Grass J, Gould L, Mahon B. Epidemiology of foodborne disease outbreaks caused by Clostridium perfringens, United States, 1998-2010. *Foodborne Pathog Dis.* 2013;10:131–136.
- Kennedy CL, Smith DJ, Lyras D, et al. Programmed cellular necrosis mediated by the pore-forming α -toxin from *Clostridium septicum*. *PLoS Pathogens*. 2009;5:e1000516.
- Lalli G, Bohnert S, Deinhardt K, et al. The journey of tetanus and botulinum neurotoxins in neurons. Trends Microbiol. 2003;11:431–437.
- Lessa F, Mu Y, Bamberg W, et al. Burden of Clostridium difficile infection in the United States. N Engl J Med. 2015;372:825–834.
- Lindstrom M, Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. Clin Microbiol Rev. 2006;19:298-314.
- McCune V, Struthers J, Hawkey P. Faecal transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection: a review. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;43:201–206.
- Schwan C, Stecher B, Tzivelekidis T, et al. Clostridium difficile toxin CDT induces formation of microtubule-based protrusions and increases adherence of bacteria. PLoS Pathogens. 2009;5:e1000626.
- Stevens DL, Bryant AE. The role of clostridial toxins in the pathogenesis of gas gangrene. Clin Infect Dis. 2002;35(Suppl 1):S93-S100.
- Voth DE, Ballard JD. Clostridium difficile toxins: mechanism of action and role in disease. Clin Microbiol Rev. 2005;18:247-263.
- Ziakas P, Zacharioudakis I, Zervou F, et al. Asymptomatic carriers of toxigenic *C. difficile* in long-term care facilities: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *PLoS ONE*. 2015;10(2):e0117195.

CAPÍTULO 31

Bactérias Anaeróbias não Formadoras de Esporos

Uma mulher de 36 anos com retenção urinária, dor pélvica e febre, apresentou-se no departamento de emergência 6 dias após a realização de recuperação de oócitos transvaginal e transferência de embriões por infertilidade masculina. A tomografia computadorizada revelou grandes abscessos multiloculados, pélvicos e tubo-ovarianos. A mulher melhorou após drenagem dos abscessos e antibioticoterapia. A coloração de Gram do material dos abscessos revelou uma mistura polimicrobiana de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e ambas, aeróbicas e anaeróbicas, foram isoladas em cultura.

- 1. Quais são as bactérias anaeróbias mais prováveis nessa infecção?
- 2. Quais as características da maioria das infecções por Actimomyces?
- 3. Que infecções são tipicamente causadas por Bacteroides fragilis?
- 4. Que os antibióticos são geralmente ativos contra B. fragilis?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Bacteroides fragilis

Palavras-gatilho

Bacilo pleomórfico, cápsula, formação de abscesso, resistência aos fármacos

Biologia e Virulência

- Bacilo anaeróbio, pleomórfico, Gram-negativo
- Envolto por uma cápsula de polissacarídeo
- Grande componente de lipopolissacarídeo na parede celular, mas sem atividade de endotoxina
- A cápsula de polissacarídeo é o principal fator de virulência
- A toxina metaloprotease termolábil é responsável pela doença diarreica

Epidemiologia

- Coloniza o trato gastrointestinal de animais e humanos como membro pouco importante do microbioma; raro ou ausente no trato genital ou orofaringe de indivíduos saudáveis
- Infecções endógenas

Doenças

 Associado a infecções pleuropulmonares, intra-abdominais, genitais, cutâneas e dos tecidos moles, caracterizadas pela formação de abscessos; bacteremia

Diagnóstico

- Espécimes clínicos com coloração de Gram característica
- Cresce rapidamente em culturas incubadas em condições anaeróbias
- Facilmente identificado por testes bioquímicos, sequenciamento gênico e espectrometria de massa utilizando MALDI

Tratamento, Prevenção e Controle

 Resistente à penicilina e 25% dos isolados resistentes à clindamicina; uniformemente sensível ao metronidazol e à maioria das cepas, sensível aos carbapenêmicos e à piperacilina-tazobactam

Os cocos e bacilos anaeróbios não formadores de esporos são um grupo heterogêneo de bactérias que formam a população bacteriana predominante da pele e de superfícies mucosas (Tabela 31-1). Os organismos são principalmente patógenos oportunistas, tipicamente responsáveis por infecções endógenas, e geralmente são isolados em misturas de bactérias aeróbicas e anaeróbicas. Muitos desses anaeróbios têm necessidades nutricionais fastidiosas e crescem lentamente nos

meios de laboratório. Felizmente, o adequado controle e tratamento da maioria das infecções por esses organismos pode basear-se no conhecimento de que existe uma mistura de organismos aeróbios e anaeróbios no espécime clínico e que não há necessidade do isolamento e da identificação dos organismos individuais. Uma exceção a essa regra geral consiste nas infecções causadas por *Bacteroides fragilis*, um bacilo Gram-negativo de crescimento rápido que pode produzir doenças fatais.



Tabela 31-1

Importantes Bactérias Anaeróbias não Formadoras de Esporos

Organismo	Origem Histórica			
Cocos Gram-positivos Anaeróbios				
Anaerococcus	an, sem; aer, ar; coccus, baga ou cocos (cocos anaeróbios)			
Atopobium	atopos, incomum; bios, vida			
Finegoldia	Denominado segundo o microbiologista americano Sid Finegold			
Micromonas	micro, minúsculo; monas, célula (célula minúscula)			
Peptoniphilus	peptonum, peptona; filus, amante (amantes de peptonas, principal fonte de energia)			
Peptostreptococcus	pepto, cozinhar ou digerir (estreptococos que digerem)			
Schleiferella	Denominado segundo o microbiologista alemão K.H. Schleifer			
Bacilos Gram-positivos Anaeróbios				
Actinomyces	aktinos, raio; mykes, fungo (fungos em raios, referindo-se ao arranjo radial dos filamentos nos grânulos)			
Bifidobacterium	bifidus, fendido; bakterion, pequeno bacilo (pequeno bacilo fendido ou bifurcado)			
Eubacterium	eu, bom ou benéfico (bacilo benéfico; i.e., bacilo normalmente presente)			
Lactobacillus	lacto, leite (bacilo do leite; originalmente isolado do leite; além disso, o principal produto metabólico da fermentação é o ácido lático)			
Mobiluncus	mobilis, capaz de movimento ou de estar ativo; uncus, gancho (bacilo curvo, móvel)			
Propionibacterium	propionicum, ácido propiônico (o ácido propiônico é o principal produto metabólico da fermentação)			
Cocos Gram-n	Cocos Gram-negativos Anaeróbios			
Veillonella	Denominado segundo A. Veillon, o bacteriologista francês que isolou a espécie tipo			
Bacilos Gram-	Bacilos Gram-negativos Anaeróbios			
Bacteroides	bacter, bastão ou bacilo; idus, forma (forma de bacilo)			
Fusobacterium	fusus, fuso; bakterion, pequeno bacilo (pequeno bacilo em forma de fuso)			
Parabacteroides	para, relacionado com (relacionado com Bacteroides)			
Porphyromonas	porphyreos, púrpura; monas, unidade (bacilos pigmentados)			
Prevotella	Denominado segundo o microbiologista francês A.R. Prevot, pioneiro da microbiologia de anaeróbios			

Cocos Gram-positivos Anaeróbios

Durante certo tempo todos os cocos anaeróbios com significado clínico eram incluídos no gênero *Peptostreptococcus*. Infelizmente, foi reconhecido que esses organismos haviam sido organizados em um único gênero com base fundamentalmente na sua morfologia em coloração de Gram e na incapacidade de crescer em aerobiose. Métodos mais sofisticados têm sido, desde então, utilizados para reclassificar muitas dessas espécies em novos gêneros. Embora alguns cocos anaeróbios sejam mais virulentos que outros e alguns estejam associados a doenças específicas, a identificação específica dos diferentes gêneros quase sempre é desnecessária e o reconhecimento de que os cocos anaeróbios estão associados a uma infecção é tipicamente suficiente.

Os cocos Gram-positivos anaeróbios normalmente colonizam a cavidade oral, o trato gastrointestinal (GI), o trato geniturinário e a pele. Eles produzem infecções quando ocorre disseminação desses locais para outros normalmente estéreis. Por exemplo, bactérias que colonizam as vias aéreas superiores podem causar sinusite e infecções pleuropulmonares; bactérias do intestino podem causar infecções intra-abdominais; bactérias do trato geniturinário podem causar endometrite, abscessos pélvicos e salpingite; bactérias da pele podem provocar celulite e infecções dos tecidos moles; e bactérias que invadem o sangue podem produzir infecções ósseas e em órgãos sólidos (Fig. 31-1).

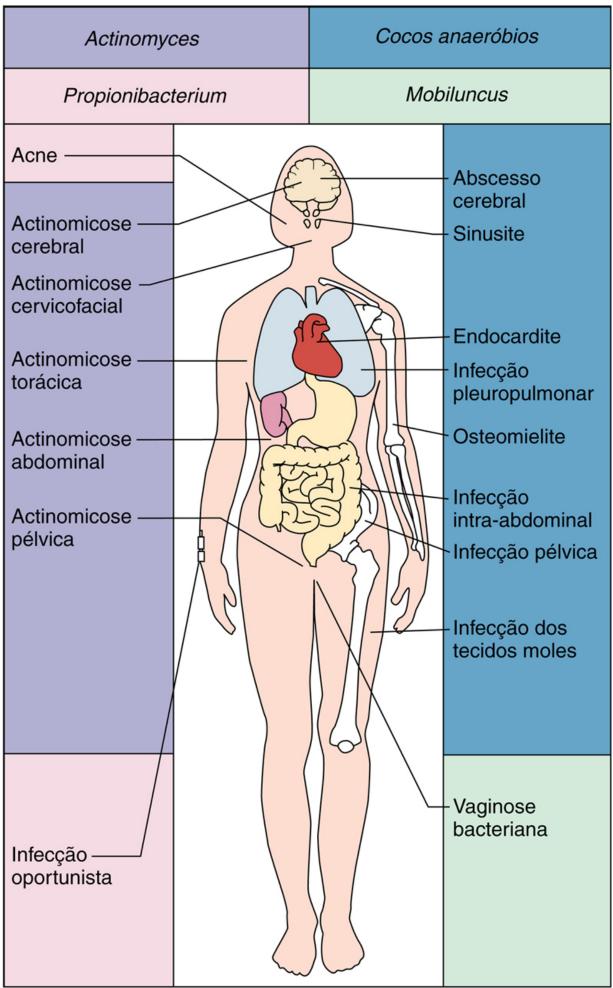


FIGURA 31-1 Doenças associadas a cocos anaeróbios e *Actinomyces*, *Propionibacterium* e *Mobiluncus* — os últimos três são bacilos Gram-positivos anaeróbios não formadores de esporos.

A confirmação laboratorial das infecções por bactérias anaeróbias é complicada por três fatores: (1) devem ser tomados cuidados para prevenir a contaminação do espécime clínico com cocos anaeróbios que normalmente colonizam a pele e as mucosas; (2) o espécime coletado deve ser transportado em recipiente livre de oxigênio para prevenir a perda dos organismos; e (3) os espécimes devem ser cultivados em meios nutricionalmente enriquecidos por períodos prolongados (i.e., 5 a 7 dias). Além disso, algumas espécies de estafilococos e estreptococos crescem inicialmente apenas em atmosfera de anaerobiose e podem ser confundidos com cocos anaeróbios. Contudo, esses organismos não podem ser classificados como anaeróbios porque eventualmente crescem bem em ar suplementado com 10% de dióxido de carbono (CO₂).

Os cocos anaeróbios geralmente são sensíveis às **penicilinas** e aos **carbapenêmicos** (p.ex., imipenem e meropenem, ertapenem); apresentam sensibilidade intermediária às cefalosporinas de amplo espectro, clindamicina, eritromicina e tetraciclinas; e são resistentes aos aminoglicosídeos (como todos os anaeróbios). Em infecções monomicrobianas quase sempre é indicada terapia específica; porém, como a maioria das infecções por esses organismos é polimicrobiana, usualmente é escolhida terapia de amplo espectro contra bactérias aeróbias e anaeróbias.

Bacilos Gram-positivos Anaeróbios

Os bacilos Gram-positivos não formadores de esporos incluem uma diversidade de bactérias anaeróbias facultativas ou estritamente anaeróbicas que colonizam a pele e as superfícies mucosas (Tabela 31-2; veja também Tabela 31-1). Actinomyces, Mobiluncus, Lactobacillus e Propionibacterium são reconhecidamente patógenos oportunistas, enquanto outros gêneros, como Bifidobacterium e Eubacterium, podem ser isolados de espécimes clínicos, mas raramente causam doença em seres humanos.



Tabela 31-2

Bacilos Gram-positivos Anaeróbios não Formadores de Esporos

Organismo	Doenças humanas
Actinomyces spp.	Infecções orais localizadas, actinomicose (cervicofacial, torácica, abdominal, pélvica, sistema nervoso central)
Propionibacterium spp.	Acne, canaliculite lacrimal, infecções oportunistas
Mobiluncus spp.	Vaginose bacteriana, infecções oportunistas
Lactobacillus spp.	Endocardite, infecções oportunistas
Eubacterium spp.	Infecções oportunistas
Bifidobacterium spp.	Infecções oportunistas

Actinomyces

Os organismos *Actinomyces* são bacilos Gram-positivos anaeróbios facultativos ou estritamente anaeróbicos. Eles não são ácido-rápidos (ao contrário das espécies de *Nocardia*, morfologicamente semelhantes), crescem lentamente em cultura e tendem a produzir **infecções crônicas de desenvolvimento lento**. Em espécimes clínicos, ou quando isolados em cultura, tipicamente desenvolvem formas filamentosas delicadas ou hifas (lembrando fungos) (Fig. 31-2). Entretanto, esses organismos são bactérias verdadeiras, uma vez que não possuem mitocôndria nem membrana nuclear, reproduzem-se por fissão e são inibidos pela penicilina, mas não pelos antibióticos antifúngicos. Foram descritas quase 50 espécies e muitas têm sido implicadas em doenças humanas; no entanto, muitos isolados provavelmente foram identificados incorretamente antes de estarem disponíveis as técnicas de sequenciamento gênico e espectrometria de massa. Independentemente disso, a identificação de gênero quase sempre é suficiente.

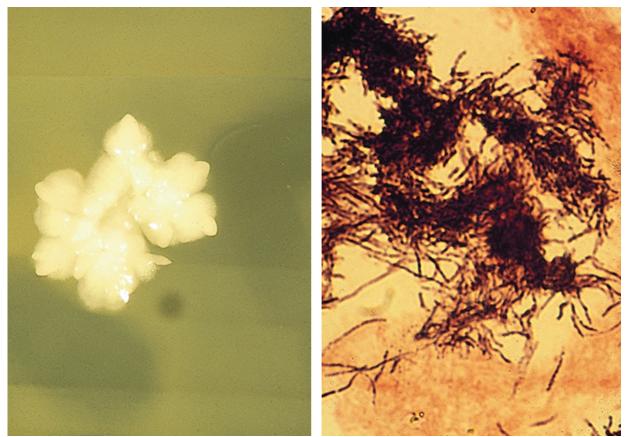


FIGURA 31-2 Aspecto macroscópico de colônia (à esquerda) e coloração de Gram (à direita) de Actinomyces.

Os organismos *Actinomyces* colonizam os tratos respiratório superior, GI e genital feminino, mas normalmente não estão presentes na superfície da pele. Os organismos apresentam baixo potencial de virulência e causam doença somente quando as barreiras normais da mucosa são rompidas por traumatismo, cirurgia ou infecção. As infecções causadas por *Actinomyces* são **endógenas**, sem evidência de disseminação pessoa a pessoa ou de doença com origem em fonte externa.

A doença clássica causada por *Actinomyces* é denominada **actinomicose** (mantendo a ideia inicial de que tais organismos seriam fungos ou "micoses"). A actinomicose é caracterizada pelo desenvolvimento de lesões granulomatosas crônicas que se tornam supurativas e formam abscessos conectados por fístulas de drenagem. Colônias macroscópicas de organismos semelhantes a grãos de areia podem frequentemente ser observadas em abscessos e fístulas de drenagem. Essas colônias, denominadas **grânulos de enxofre**, porque podem ter aparência amarela ou alaranjada, são massas de organismos filamentosos unidos por fosfato de cálcio (Fig. 31-3). As áreas de supuração são circundadas por tecido de granulação fibroso que confere consistência rígida ou lenhosa à superfície que cobre os tecidos envolvidos.

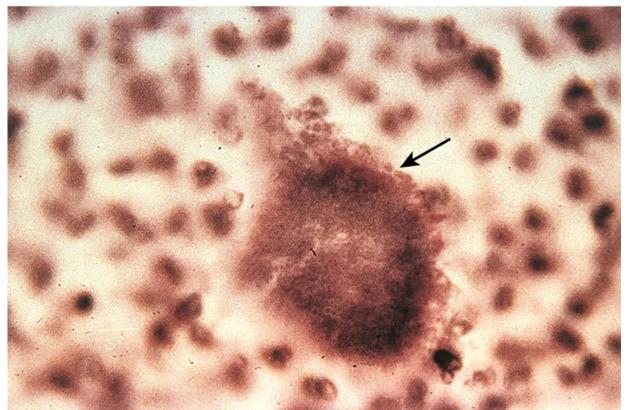


FIGURA 31-3 Grânulo de enxofre coletado da fístula de um paciente com actinomicose. Observam-se bacilos filamentosos delicados (*seta*) na periferia do grânulo esmagado.

A maioria das infecções por *Actinomyces* é **cervicofacial**, desenvolvendo-se em pacientes com má higiene oral ou que passaram por procedimentos dentários invasivos ou traumatismo oral (Fig. 31-4). Nesses pacientes, o *Actinomyces* presente na boca invade o tecido lesionado e inicia o processo infeccioso. A doença pode ocorrer como infecção piogênica aguda ou como um processo de evolução lenta e relativamente indolor. A observação de tecido edemaciado com fibrose e escara, bem como de fístulas de drenagem na região do ângulo da mandíbula e do pescoço, deve alertar o clínico para a possibilidade de actinomicose. Os sintomas da **actinomicose torácica** são inespecíficos. Os abscessos podem formar-se no tecido pulmonar no início da doença e, então, disseminar-se para os tecidos adjacentes com a progressão da doença. A **actinomicose abdominal** pode disseminar-se pelo abdome, envolvendo potencialmente qualquer outro sistema de órgãos. A **actinomicose pélvica** pode acontecer como uma forma relativamente benigna de vaginite, ou, mais comumente, pode haver destruição tecidual extensa, incluindo o desenvolvimento de abscessos tubo-ovarianos ou obstrução uretral (Fig. 31-5; Caso Clínico 31-1). A manifestação mais comum da **actinomicose do sistema nervoso central** consiste em um abscesso cerebral único, mas também podem ser observados meningite, empiema subdural e abscesso epidural. Recentemente foi descrita actimomicose em pacientes com doença granulomatosa crônica, apresentando-se como uma enfermidade febril inespecífica.



FIGURA 31-4 Paciente com actinomicose cervicofacial. Observe a fístula de drenagem (seta).



FIGURA 31-5 As espécies de *Actinomyces* podem colonizar a superfície de corpos estranhos, como esse dispositivo intrauterino, resultando em desenvolvimento de actinomicose pélvica. (De Smith E. In Lambert H, Farrar W, editors: *Infectious diseases illustrated*, London, 1982, Gower.)



Caso Clínico 31-1 Actinomicose Pélvica

Quercia e colaboradores (*Med Mal Infect* 36:393-395, 2006) descreveram uma apresentação clássica de actinomicose pélvica associada a dispositivo contraceptivo intrauterino (DIU). A paciente era uma mulher 41 anos que se apresentou

com história de 5 meses de dor abdominal e pélvica, perda de peso, mal-estar e secreção vaginal amarelada. Desde 1994 ela vinha usando um DIU, que foi removido em junho de 2004. Os sintomas iniciaram-se logo após a remoção do dispositivo. A tomografia computadorizada mostrou grande massa pélvica envolvendo as tubas uterinas, além de inúmeros abscessos hepáticos. A biópsia cirúrgica foi realizada e *Actinomyces* foi isolado em cultura. A paciente foi submetida ao desbridamento cirúrgico e recebeu terapia oral com penicilina por 1 ano. Esse episódio ilustra a natureza crônica da actinomicose e a necessidade de drenagem cirúrgica e terapia antibiótica de longo curso.

A confirmação laboratorial da actinomicose é frequentemente difícil. Devem ser tomados cuidados durante a coleta dos espécimes clínicos para evitar que o material coletado seja contaminado com *Actinomyces* da população microbiana normal presente nas superfícies das mucosas. Deve ser coletada grande quantidade de pus ou tecido, pois os organismos estão concentrados nos grânulos de enxofre e espalhados nos tecidos envolvidos. Caso sejam detectados grânulos de enxofre nas fístulas de drenagem ou nos tecidos, esses devem ser prensados entre duas lâminas, corados e examinados ao microscópio. Bacilos Gram-positivos delgados e ramificados podem ser observados na periferia dos grânulos (Fig. 31-3). *Actinomyces* são organismos fastidiosos e crescem lentamente em condições anaeróbias; seu isolamento pode demorar 2 semanas ou mais. As colônias têm aparência branca com uma superfície abaulada que pode tornar-se irregular após incubação durante 1 semana ou mais, lembrando o topo de um molar (Fig. 31-6). O isolamento de *Actinomyces* em hemoculturas deve ser cuidadosamente avaliado porque a maioria dos isolados representa bacteremia transitória insignicante a partir da orofaringe ou do trato GI.



FIGURA 31-6 Actinomyces israelii com aparência de dente molar, após incubação por 1 semana. Essa morfologia da colônia serve para lembrar que essas bactérias normalmente são encontradas na cavidade oral.

O tratamento da actinomicose consiste na combinação da drenagem dos abscessos localizados ou do **desbridamento cirúrgico** dos tecidos envolvidos e a administração de antibióticos por longos períodos. *Actinomyces* são uniformemente

sensíveis à **penicilina** (considerado o antibiótico de escolha), carbapenêmicos, macrolídeos e clidamicina. A maioria das espécies é resistente ao metronidazol e apresenta atividade variável às tetraciclinas. Nos pacientes com infecções que parecem não responder após terapia prolongada (p. ex., 4 a 12 meses), a presença de focos não drenados deve ser considerada. A resposta clínica em geral é boa, mesmo em pacientes que sofreram destruição tecidual extensa. A manutenção da boa higiene oral e o uso adequado de antibióticos profiláticos nos traumatismos da cavidade oral ou do trato GI podem reduzir o risco dessas infecções.

Lactobacillus

As espécies de *Lactobacillus* são bacilos anaeróbios facultativos ou estritamente anaeróbicos. Elas são encontradas como parte da microbiota normal da cavidade oral, do estômago, do intestino e do trato geniturinário. Os organismos são comumente isolados em espécimes de urina e culturas de sangue. Como os lactobacilos são os organismos mais comuns na uretra, o seu isolamento em cultura de urina normalmente é decorrente da contaminação do espécime, mesmo quando existe grande número de organismos. A razão para os lactobacilos raramente causarem infecções urinárias é a incapacidade de crescerem na urina. A invasão para a corrente sanguínea pode ocorrer em um dos três contextos seguintes: (1) bacteremia transitória a partir de fonte geniturinária (p. ex., após parto ou procedimento ginecológico); (2) endocardite (Caso Clínico 31-2); e (3) septicemia oportunista em paciente imunocomprometido. As cepas de lactobacilos utilizadas como probióticos têm sido ocasionalmente relacionadas com infecções em seres humanos, mais comuns em pacientes imunocomprometidos.



Caso Clínico 31-2 Endocardite por Lactobacillus

O caso clínico a seguir é uma descrição clássica de endocardite causada por *Lactobacillus* (Salvana & Frank, *J Infect* 53:5-10, 2006). Uma mulher de 62 anos foi admitida com fibrilação atrial e histórico de 2 semanas de sintomas semelhantes aos da gripe. A paciente tinha sido submetida a tratamento odontológico 4 semanas antes da admissão e não tinha recebido profilaxia antibiótica, apesar do histórico de febre reumática na infância, resultando em prolapso da válvula mitral e regurgitação. Durante o exame, a paciente estava afebril, taquicárdica e um pouco taquipneica. O exame cardiológico mostrou sopro sistólico. Três culturas de sangue foram coletadas e em todas houve crescimento de *Lactobacillus acidophilus*. A paciente foi tratada com combinação de penicilina e gentamicina por 6 semanas, apresentando completa recuperação. Esse caso ilustra a necessidade de profilaxia antibiótica durante procedimentos dentários em pacientes com válvulas cardíacas lesionadas e a necessidade de terapia antibiótica combinada para o tratamento bem-sucedido das infecções graves causadas por lactobacilos.

O tratamento da endocardite e das infecções oportunistas é difícil porque os lactobacilos são resistentes à vancomicina (um antibiótico geralmente ativo contra bactérias Gram-positivas) e são inibidos, mas não mortos, por outros antibióticos. Para que ocorra atividade bactericida é necessária associação de **penicilina com um aminoglicosídeo**.

Mobiluncus

Os membros do gênero *Mobiluncus* são bacilos Gram-variáveis ou Gram-negativos curvos, anaeróbios estritos e com as extremidades afiladas. Apesar da sua aparência nos espécimes corados por Gram (Fig. 31-7), são classificados como bacilos Gram-positivos porque (1) têm uma parede celular Gram-positiva; (2) não apresentam endotoxinas; e (3) são sensíveis à vancomicina, à clindamicina, à eritromicina e à ampicilina, mas resistentes à colistina. Os organismos são fastidiosos e crescem lentamente, mesmo em meios enriquecidos suplementados com soro de cavalo ou de coelho. Das duas espécies de *Mobiluncus*, *M. curtisii* é encontrado raramente em vagina de mulheres saudáveis, porém é abundante em mulheres com vaginose bacteriana (vaginite). Sua aparência microscópica é um marcador útil dessa doença, porém o papel exato desses organismos na patogênese da vaginose bacteriana não é claro.

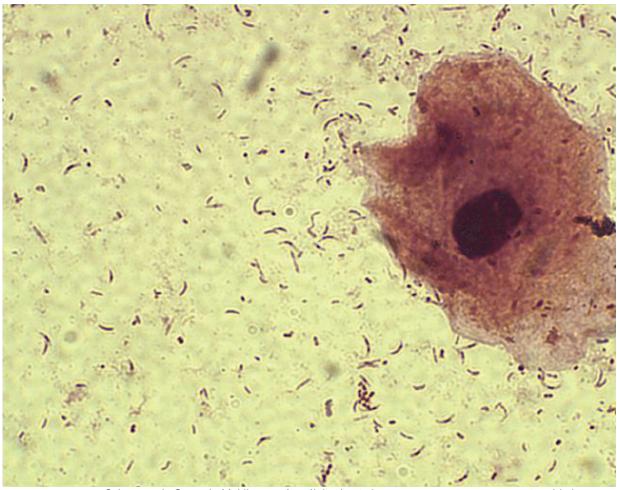


FIGURA 31-7 Coloração de Gram de *Mobiluncus*. As células bacterianas são curvas e possuem extremidades afiladas.

Propionibacterium

As propionibactérias são bacilos Gram-positivos pequenos, frequentemente organizados em cadeias curtas ou aglomerados (Fig. 31-8). São comumente encontrados em pele (ao contrário de *Actinomyces*), conjuntiva, ouvido externo, orofaringe e trato genital feminino. A espécie mais comumente isolada é *Propionibacterium acnes*. *P. acnes* é responsável por dois tipos de infecção: (1) **acne vulgar** (como o nome indica) em adolescentes e adultos jovens; e (2) **infecções oportunistas** (Caso Clínico 31-3) em pacientes com próteses (p. ex., válvulas cardíacas artificiais ou próteses articulares) ou dispositivos intravasculares (p. ex., cateteres e válvulas de drenagem de líquido cefalorraquidiano, *shunts*). As propionibactérias também são comumente isoladas em culturas de sangue, mas esse achado usualmente representa contaminação com bactérias presentes na pele do local da flebotomia.

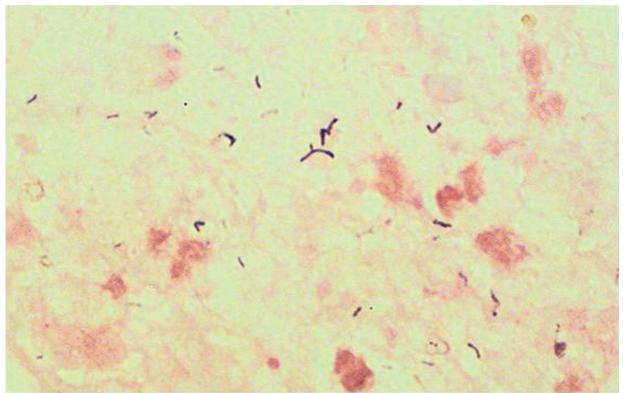


FIGURA 31-8 Coloração de Gram de Propionibacterium em uma cultura de sangue.



Caso Clínico 31-3 Infecção de Shunt por Propionibacterium

Chu e colaboradores (*Neurosurgery* 49:717-720, 2001) reportaram três casos de pacientes com infecção do sistema nervoso central por *Propionibacterium acnes*. O paciente seguinte ilustra os problemas com esse organismo. Uma mulher de 38 anos, com hidrocefalia congênita, apresentou-se com história de diminuição do nível de consciência, cefaleia e episódios de vômitos há 1 semana. Ela havia sido submetida à colocação de diversos *shunts* ventriculoperitoneais, com o último tendo sido colocado 5 anos antes do quadro atual. A paciente estava afebril e sem sinais meníngeos, mas estava sonolenta e despertava somente com estímulos fortes. O líquido cefalorraquidiano (LCR) coletado do *shunt* não tinha eritrócitos, mas apresentava 55 leucócitos; os níveis de proteína estavam altos e a glicose um pouco baixa. Bacilos Gram-positivos pleomórficos foram observados na coloração de Gram e *P. acnes* cresceu na cultura anaeróbia do LCR. Após 1 semana de tratamento com altas doses de penicilina, o LCR permanecia positivo no Gram e na cultura. A paciente foi submetida à cirurgia para a remoção de todo material estranho e recebeu tratamento com penicilina por mais 10 semanas. Essa paciente ilustra a natureza crônica e relativamente assintomática da doença, a necessidade de remoção do *shunt* e de outros corpos estranhos e a necessidade do tratamento por períodos de tempo prolongados.

O papel central de *P. acnes* na acne é estimular a resposta inflamatória. A produção de peptídeos de baixo peso molecular pelas bactérias residentes nos folículos sebáceos atrai leucócitos. As bactérias são fagocitadas e, após liberação de enzimas bacterianas hidrolíticas (lipases, proteases, neuraminidase e hialuronidase), estimulam uma resposta inflamatória localizada. *P. propionicum* está associado a abscessos endodônticos e canaliculite lacrimal (inflamação dos ductos lacrimais).

As propionibactérias são capazes de crescer na maioria dos meios de cultura usuais, embora possam levar 2 a 5 dias até aparecer crescimento. Deve-se ter cuidado para evitar a contaminação do espécime com organismos normalmente presentes na pele. O significado do isolamento também deve ser interpretado de acordo com a apresentação clínica (p. ex., cateter ou outros corpos estranhos podem servir como foco para esses patógenos oportunistas).

A acne não está relacionada com a efetividade da limpeza da pele, porque a lesão se desenvolve no interior dos folículos sebáceos. Por essa razão, a acne é tratada primariamente pela aplicação tópica de peróxido de benzoíla e antibióticos. Os antibióticos, como eritromicina e clindamicina, têm efetividade comprovada no tratamento.

Bifidobacterium e Eubacterium

As espécies Bifidobacterium e Eubacterium são comumente encontradas na orofaringe, no intestino grosso e na vagina. Essas bactérias podem ser isoladas em espécimes clínicos, porém apresentam potencial de virulência muito baixo e geralmente representam contaminantes sem significado clínico. A confirmação do seu papel etiológico em uma infecção depende de seu isolamento em grande quantidade, a partir de espécimes múltiplos, e da ausência de outros organismos patogênicos.

Cocos Gram-negativos Anaeróbios

Os cocos Gram-negativos anaeróbios raramente são isolados em espécimes clínicos, exceto quando presentes como contaminantes. Os membros do gênero *Veillonella* são os anaeróbios predominantes na orofaringe, mas representam menos de 1% de todos os anaeróbios isolados em espécimes clínicos. Os outros cocos anaeróbios raramente são isolados.

Bacilos Gram-negativos Anaeróbios

Os bacilos Gram-negativos anaeróbios mais importantes pertencem aos gêneros *Bacteroides, Fusobacterium, Parabacteroides, Porphyromonas* e *Prevotella* (Tabela 31-1). Esses anaeróbios são as bactérias predominantes na maioria das superfícies mucosas, sobrepujando as bactérias aeróbias de 10 até 1.000 vezes. Apesar da abundância e da diversidade dessas bactérias, a maioria das infecções é causada por relativamente poucas espécies (Tabela 31-3).



Tabela 31-3

Principais Bactérias Anaeróbias Gram-negativas Responsáveis por Doenças Humanas

Infecção	Bactérias
Cabeça e pescoço	Bacteroides ureolyticus
	Fusobacterium nucleatum
	Fusobacterium necrophorum
	Porphyromonas asaccharolytica
	Porphyromonas gingivalis
	Prevotella intermedia
	Prevotella melaninogenica
Intra-abdominal	Bacteroides fragilis
	Bacteroides thetaiotaomicron
	P. melaninogenica
Ginecológica	B. fragilis
	Prevotella bivia
	Prevotella disiens
Pele e tecidos moles	B. fragilis
Bacteremia	B. fragilis
	B. thetaiotaomicron
	Fusobacterium spp.

O gênero *Bacteroides* é composto por mais de 90 espécies e subespécies, sendo *Bacteroides* fragilis o membro mais importante do gênero. Uma característica comum à maioria das espécies do gênero *Bacteroides* é ter o crescimento estimulado por bile. As espécies de *Bacteroides* são pleomórficas em forma e tamanho, assemelhando-se a uma população mista de organismos em uma coloração de Gram casualmente examinada (Fig. 31-9). Outros bacilos Gram-negativos anaeróbios podem ser muito pequenos (p. ex., *Porphyromonas*, *Prevotella*) ou alongados (p. ex., *Fusobacterium*; Fig. 31-10). A maioria dos anaeróbios Gram-negativos cora fracamente pelo método de Gram, de modo que os espécimes corados devem ser examinados com cuidado. Embora as espécies *Bacteroides* cresçam rapidamente em cultura, os demais bacilos Gram-negativos anaeróbios são fastidiosos, e as culturas podem necessitar ser incubadas por 3 dias, ou mais, antes que as bactérias possam ser detectadas.

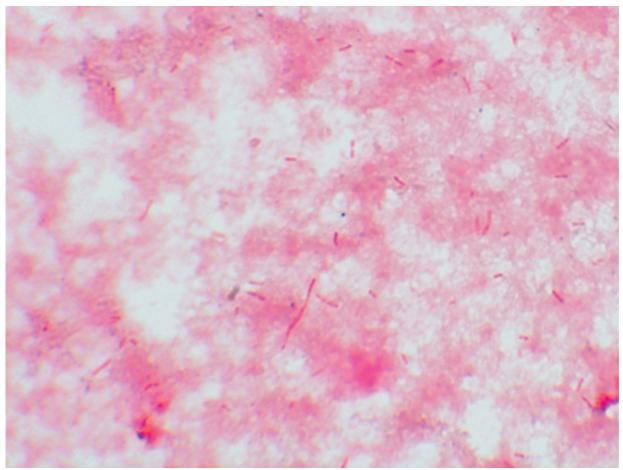


FIGURA 31-9 Bacteroides fragilis. Os organismos se apresentam como bacilos Gram-negativos pleomórficos fracamente corados.

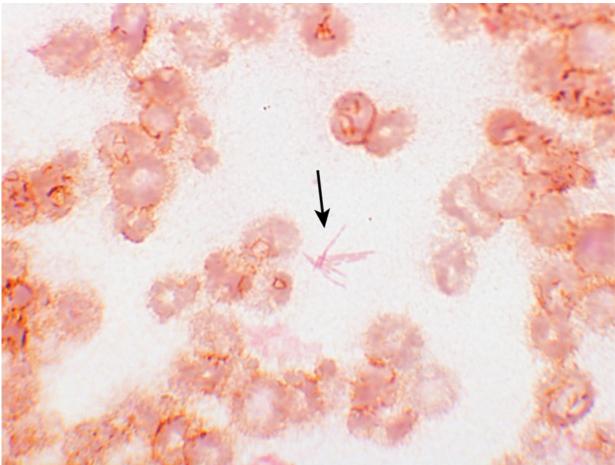


FIGURA 31-10 Fusobacterium nucleatum. Os organismos (seta) são fracamente corados, delgados e alongados com extremidades afiladas (p. ex., fusiformes).

Fisiologia e Estrutura

Os *Bacteroides* têm uma parede celular com estrutura típica de Gram-negativos, que pode ser envolta por uma **cápsula polissacarídica**. Um dos principais componentes da parede celular é um lipopolissacarídeo (LPS) de superfície. Em contraste com as moléculas LPS dos bacilos Gram-negativos aeróbios, o LPS dos *Bacteroides* apresenta pouca ou nenhuma atividade de endotoxina. Isso acontece porque o lipídio A, componente do LPS, não tem grupos fosfato nos resíduos de glicosamina e o número de ácidos graxos ligados aos aminoaçúcares é reduzido; ambos os fatores estão correlacionados com a perda da atividade pirogênica.

Patogênese e Imunidade

B. fragilis, outra espécie de Bacteroides, e Porphyromonas gingivalis podem aderir a células epiteliais e moléculas extracelulares (p. ex., fibrinogênio, fibronectina, lactoferrina) por meio de fímbrias. As fímbrias de P. gingivalis também são importantes para a indução da expressão de citocinas pro-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral-α (TNF-α) e interleucina-lβ (IL-1β). As cepas de B. fragilis e Prevotella melaninogenica também podem aderir de modo mais eficaz à superfície peritoneal que outros anaeróbios, pois a sua superfície está coberta com uma cápsula polissacarídica. Essa capsula é também antifagocítica, assim como as cápsulas de outras bactérias, e constitui o principal fator de virulência de B. fragilis. Os ácidos graxos de cadeia curta (p. ex., ácido succínico) produzidos durante o metabolismo anaeróbio inibem a fagocitose e a morte intracelular. Finalmente, algumas espécies de Porphyromonas e Prevotella produzem proteases que degradam imunoglobulinas.

Em geral, os anaeróbios capazes de causar doença podem tolerar a exposição ao oxigênio. A catalase e o superóxido dismutase, que inativam o peróxido de hidrogênio e os radicais livres superóxido (O_2^-) , respectivamente, estão presentes em muitas cepas patogênicas.

As cepas enterotoxigênicas de *B. fragilis* que causam doenças diarreicas produzem uma **toxina termolábil metaloprotease de zinco** (**toxina** *B. fragilis*). Essa toxina provoca alterações morfológicas no epitélio intestinal pelo rearranjo da actina F, com consequente estimulação da secreção de cloreto e perda de fluidos. A enterotoxina também induz a secreção de IL-8 por células epiteliais intestinais, contribuindo assim para dano inflamatório no epitélio.

Epidemiologia

Tal como citado anteriormente, os anaeróbios colonizam o corpo humano em grande número (funcionando para estabilizar a flora bacteriana residente), prevenindo a colonização por organismos patogênicos de fontes exógenas, auxiliando na digestão de alimentos e estimulando a imunidade do hospedeiro. Esses organismos, normalmente protetores, causam doença apenas quando se deslocam de suas localizações endógenas para locais normalmente estéreis. Assim, os organismos da microbiota residente são capazes de disseminar-se, por traumatismo ou doença, das mucosas normalmente colonizadas para tecidos ou fluidos estéreis.

Como esperado, as infecções endógenas são caracterizadas pela presença de uma mistura polimicrobiana. Entretanto, é importante entender que a mistura de organismos presentes na superfície de mucosas saudáveis difere daquela presente nos tecidos doentes. Estudos da população microbiana, ou **microbioma**, mostram que na mucosa saudável existe uma mistura complexa de muitas espécies bacterianas. No estado de doença, a mistura se altera para menor diversidade (i.e., menos espécies representadas) e predominância do organismo clinicamente mais significativo. Por exemplo, *B. fragilis* está comumente associado a infecções pleuropulmonares, intra-abdominais e genitais. No entanto, essa bactéria representa menos de 1% da microbiota do cólon e raramente é isolada da orofaringe e do trato genital de pessoas saudáveis, a não ser que sejam utilizadas técnicas altamente seletivas.

Doenças Clínicas

Infecções do Trato Respiratório

Quase metade das infecções crônicas dos seios faciais e dos ouvidos, bem como virtualmente todas as infecções periodontais, envolve misturas de anaeróbios Gram-negativos, sendo os mais comumente isolados *Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium* e *Bacteroides* não *fragilis*. Os anaeróbios são menos comumente associados a infecções do trato respiratório inferior, a menos que haja história de aspiração de secreções orais.

Abcessos Cerebrais

As infecções cerebrais causadas por anaeróbios estão tipicamente associadas a história de sinusite crônica ou otite. Essa história é confirmada por evidência radiológica de extensão direta para o cérebro. Uma causa menos comum de tais infecções é a disseminação hematogênica a partir de origem pulmonar. Nesse caso, estão presentes múltiplos abscessos. Os anaeróbios mais comuns nessas infecções polimicrobianas são as espécies *Prevotella, Porphyromonas* e *Fusobacterium* (bem como *Peptostreptococcus* e outros cocos aeróbios e anaeróbios).

Infecções Intra-abdominais

Apesar da diversidade de populações de bactérias que colonizam o trato GI, relativamente poucas espécies estão associadas a infecções intra-abdominais. Os anaeróbios são isolados em praticamente todas essas infecções, sendo *B. fragilis* o organismo mais comum (Fig. 31-11). Outros anaeróbios importantes são *B. thetaiotaomicron* e *P. melaninogenica*, bem como cocos Gram-positivos aeróbios e anaeróbios.



FIGURA 31-11 Abscessos hepáticos causados por Bacteroides fragilis.

Infecções Ginecológicas

Misturas de anaeróbios são frequentemente responsáveis por causar infecções do trato genital feminino (p. ex., doença inflamatória pélvica, abscessos, endometrite, infecções de feridas cirúrgicas). Embora diversos anaeróbios possam ser isolados nos pacientes com essas infecções, os mais importantes são *Prevotella bivia* e *Prevotella disiens*; *B. fragilis* é comumente responsável pela formação de abscessos.

Infecções da Pele e dos Tecidos Moles (Caso Clínico 31-4)

Embora as bactérias anaeróbias Gram-negativas não façam parte da microbiota normal da pele (em contraste com *Peptostreptococcus* e *Propionibacterium*), podem ser introduzidas por mordida ou contaminação de uma superfície traumatizada. Em alguns casos, os organismos podem simplesmente colonizar a ferida sem produzir doença; em outros casos, a colonização pode progredir rapidamente para doença potencialmente fatal, tal como mionecrose (Fig. 31-12). *B. fragilis* é o organismo mais comumente associado a doença significativa.



FIGURA 31-12 Infecção polimicrobiana com sinergismo entre *Bacteroides fragilis* e outros anaeróbios. A infecção iniciou-se no escroto e rapidamente se disseminou para tronco e coxas, com mionecrose extensa.



Caso Clínico 31-4 Fasciite Necrosante Retroperitoneal

Pryor et al (*Crit Care Med* 29:1071-1073, 2001) descreveram um paciente desafortunado com fasciite polimicrobiana. Um homem de 38 anos, com histórico de 10 anos de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, foi submetido a uma hemorroidectomia não complicada. Durante os 5 dias seguintes o paciente apresentou dor nas coxas e nas nádegas, com náuseas e vômitos. Quando o paciente chegou ao hospital, tinha frequência cardíaca de 120 batimentos/min, pressão arterial de 120/60 mmHg, frequência respiratória de 22 respirações/min e temperatura de 38,5°C. O exame físico revelou extenso eritema na região da cirurgia, em flanco, coxas e parede abdominal. Foi observada formação de gás nos tecidos adjacentes às áreas de eritema, estendendo-se até a parte superior do tórax. Na cirurgia, foram encontradas extensas áreas de necrose tecidual e um exsudato acastanhado de odor fétido. Foram necessárias diversas cirurgias para desbridamento intenso dos tecidos envolvidos. Nas culturas das amostras cirúrgicas cresceu uma mistura de organismos aeróbios e anaeróbios, com predominância de *Escherichia coli*, estreptococos β-hemolíticos e *Bacteroides fragilis*. Esse caso clínico ilustra as complicações potenciais de cirurgia retal: destruição agressiva de tecidos, etiologia polimicrobiana com *B. fragilis* como organismo predominante e tecido necrótico com odor fétido e produção de gás.

Os anaeróbios costumavam ser responsáveis por mais de 20% de todos os casos de bacteremia clinicamente significativa; no entanto, atualmente esses organismos causam de 3 a 10% dessas infecções. A redução da incidência da doença não é totalmente compreendida, mas provavelmente possa ser atribuída ao uso generalizado de antibióticos de amplo espectro. *B. fragilis* é o anaeróbio mais comumente isolado em cultura de sangue.

Gastroenterites

As cepas de *B. fragilis* produtoras de enterotoxina podem provocar diarreia aquosa autolimitada. A maioria das infecções tem sido observada em crianças com menos de 5 anos, embora a doença também tenha sido relatada em adultos.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

O exame microscópico de amostras de pacientes com suspeita de infecções por anaeróbios pode ser útil. Embora as bactérias possam corar fracamente e de modo irregular, a presença de bacilos Gram-negativos pleomórficos serve como informação preliminar útil.

Cultura

Os espécimes devem ser coletados e transportados ao laboratório em sistemas livres de oxigênio, rapidamente inoculados em meios específicos para isolamento de anaeróbios e incubados em ambiente anaeróbio. Em razão de a maioria das infecções anaeróbias ser endógena, ao fazer a coleta, é importante evitar a contaminação da amostra pela população bacteriana normal localizada na superfície de mucosas adjacentes. O material também deve ser mantido em ambiente úmido, pois a desidratação provoca perda bacteriana significativa.

A maioria dos *Bacteroides* cresce rapidamente e devem ser detectados dentro de 2 dias; no entanto, o isolamento de outros anaeróbios Gram-negativos pode exigir incubação por mais tempo. Além disso, algumas vezes o isolamento de todas as espécies clinicamente significativas é difícil pela diversidade de bactérias presentes nas infecções polimicrobianas. O uso de meios seletivos, como os meios suplementados com bile, tem facilitado o isolamento dos anaeróbios mais importantes (Fig. 31-13).

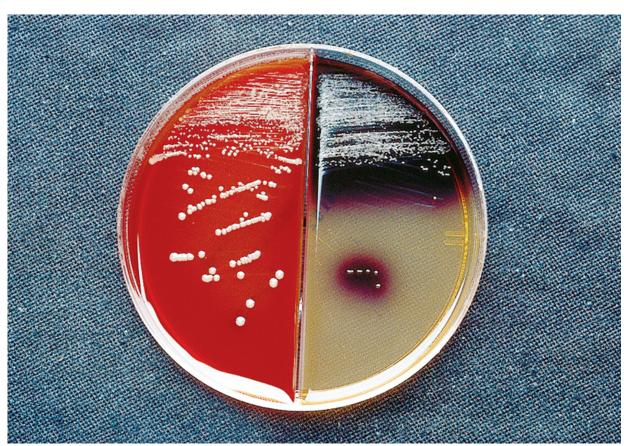


FIGURA 31-13 Crescimento de *Bacteroides fragilis* em ágar bile-esculina para *Bacteroides*. A maioria das bactérias, aeróbias e anaeróbias, é inibida pela bile e por gentamicina do meio, enquanto o grupo *B. fragilis* é estimulado pela bile, resistente à gentamicina e capaz de hidrolisar esculina, produzindo um precipitado preto.

Identificação Bioquímica

Embora a identificação de anaeróbios Gram-negativos tenha sido tradicionalmente feita por testes bioquímicos, a proliferação de novas espécies reconhecidas tornou essa identificação não confiável. A análise da sequência de genes espécie

específicas (p. ex., gene 16S do RNA ribossômico) é confiável, mas constitui uma abordagem demorada e dispendiosa. Mais recentemente, ferramentas proteonômicas (i.e., análise de perfis de proteínas espécie-específicos por espectroscopia de massa) têm sido usadas para a identificação dos organismos.

Tratamento, Prevenção e Controle

A principal abordagem para o tratamento de infecções graves por anaeróbios é a terapia antibiótica combinada com intervenção cirúrgica. Praticamente todos os membros do grupo *B. fragilis*, muitas espécies de *Prevotella* e *Porphyromonas* e alguns isolados de *Fusobacterium* produzem β-lactamases. Essas enzimas tornam as bactérias resistentes à penicilina e a muitas cefalosporinas. Os antibióticos com melhor atividade contra bacilos anaeróbios Gram-negativos são **metronidazol**, **carbapenêmicos** (p. ex., imipenem, meropenem) e a combinação β-lactâmicos com inibidores de β-lactamases (p. ex., piperacilina-tazobactam). A resistência de *Bacteroides* à clindamicina, que é mediada por plasmídeo, tornou-se mais prevalente; atualmente, 20 a 25% dos isolados nos Estados Unidos são resistentes a esse fármaco.

A doença causada por espécies de *Bacteroides* é virtualmente impossível de ser controlada, uma vez que essas espécies constituem parte importante da microbiota normal, e as infecções resultam da disseminação de organismos endógenos. É importante reconhecer, contudo, que a ruptura de barreiras naturais ao redor das superfícies de mucosas, tanto para diagnóstico como para procedimentos cirúrgicos, pode inocular esses organismos em locais normalmente estéreis. Assim, se as barreiras forem rompidas, o tratamento profilático com antimicrobianos pode ser indicado.

Referências Bibliográficas

Aldridge KE, O'Brien M. In vitro susceptibilities of the *Bacteroides fragilis* group species: change in isolation rates significantly affects overall susceptibility data. *J Clin Microbiol*. 2002;40:4349–4352.

Brook I, Frazier EH. Infections caused by Propionibacterium species. Rev Infect Dis. 1991;3:819-822.

Cannon JP, Lee TA, Bolanos JT, et al. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24:31–40.

Kononen E, Wade WG. Actinomyces and related organisms in human infections. Clin Microbiol Rev. 2015;28:419-442.

Murdoch D. Gram-positive anaerobic cocci. Clin Microbiol Rev. 1998;11:81-120.

Reichenbach J, Lopatin U, Mahlaoui N, et al. *Actinomyces* in chronic granulomatous disease: an emerging and unanticipated pathogen. *Clin Infect Dis.* 2009;49:1703–1710.

Sears C. Enterotoxigenic Bacteroides fragilis: a rogue among symbiotes. Clin Microbiol Rev. 2009;22:349–369.

Tiveljung A, Forsum U, Monstein H-J:. Classification of the genus *Mobiluncus* based on comparative partial 16S rRNA gene analysis. *Int J Syst Bacteriol*. 1996;46:332–336.

Wexler H. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. Clin Microbiol Rev. 2007;20:593-621.

Treponema, Borrelia e Leptospira

Um homem homossexual de 23 anos apresentou-se no serviço de urgência por uma úlcera indolor no eixo do pênis. A sífilis primária era o diagnóstico suspeito e, mais tarde, confirmado por testes sorológicos. É muito raro um estudante que não esteja familiarizado com as doenças causadas pelos espiroquetas, discutidos neste capítulo — sífilis, doença de Lyme, febre recorrente e leptospirose.

- 1. Por que muitos pacientes com sífilis desenvolvem infecções crônicas mesmo que a penicilina seja uniformemente ativa contra o *Treponema pallidum?*
- 2. Que reservatório e vetor são os mais importantes para a transmissão de infecções por Borrelia burgdorferi a seres humanos?
- 3. Quais testes diagnósticos são mais úteis para detecção precoce da doença de Lyme localizada e para pacientes que desenvolvem artrite ou complicações neurológicas?
- 4. Quais os melhores materiais para isolar Leptospira em cultura?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Treponema pallidum

Palavras-gatilho

Espiroqueta fina espiralada, não cultivável, microscopia de campo escuro, doença sexualmente transmissível (DST) e infecções congênitas, pessoa a pessoa, úlcera indolor (cancro)

Biologia e Virulência

- Espiroqueta espiralado, muito delgado (0,1 a 0,2 × 6 a 20 μm) para ser observado pela coloração de Gram ou Giemsa; observado por microscopia de campo escuro
- Proteínas da membrana externa promovem aderência às células hospedeiras
- Hialuronidase facilita a infiltração perivascular
- Camada de fibronectina protege contra a fagocitose
- Destruição tecidual resulta principalmente da resposta imune do hospedeiro à infecção

Epidemiologia

- Os seres humanos são os únicos hospedeiros naturais
- Sífilis venérea transmitida por contato sexual ou congenitamente
- Sífilis ocorre no mundo inteiro, sem incidência sazonal

Doenças

A sífilis apresenta-se como doença primária (úlcera indolor ou cancro no local da infecção, com linfadenopatia
regional e bacteremia), sífilis secundária (síndrome semelhante à gripe com erupção mucocutânea generalizada e
bacteremia) e doença em estádio avançado (inflamação crônica difusa e destruição de qualquer órgão ou tecido);
congênita (malformações multiorgânicas latentes, morte fetal)

Diagnóstico

- Microscopia de campo escuro ou imunofluorescência direta (IFA) são úteis se são observadas úlceras mucosas na fase primária ou secundária da sífilis
- Sorologia é muito sensível nas fases secundária e tardia da sífilis

Tratamento, Prevenção e Controle

- A penicilina é o medicamento de escolha; doxiciclina é administrada caso o paciente seja alérgico à penicilina
- Práticas sexuais seguras devem ser estimuladas, e parceiros sexuais de pacientes infectados devem ser tratados
- Nenhuma vacina está disponível

Borrelia

Palavras-gatilho

Espiroquetas grandes, eritema migrans, doença de Lyme, febre recorrente, carrapatos duros e moles, piolho do corpo

Biologia e Virulência

- Borrélias são grandes (0,2 a 0,5 \times 8 a 30 μ m) e podem ser observadas quando coradas com corantes de anilina (p. ex., Giemsa e Wright)
- A resposta imune contra os agentes da doença de Lyme pode ser responsável pela doença clínica

Epidemiologia

Doença de Lyme

- Borrelia burgdorferi provoca doença nos Estados Unidos e na Europa; Borrelia garinii e Borrelia afzelii causam doença na Europa e na Ásia
- Transmitida de camundongos para os seres humanos por carrapatos duros; reservatórios camundongos, cervos, carrapatos; vetores incluem *Ixodes scapularis* no leste e no centro-oeste dos Estados Unidos, *Ixodes pacificus* no oeste dos Estados Unidos, *Ixodes ricinus* na Europa e *Ixodes persulcatus* na Europa Oriental e na Ásia
- Noventa e cinco por cento dos casos da doença de Lyme nos Estados Unidos são de dois focos principais: Nordeste e estados centrais atlânticos (de Maine a Virgínia) e o centro-oeste superior (Minnesota, Wisconsin)
- Populações sob risco incluem pessoas expostas a carrapatos em áreas de alta endemicidade
- Distribuição mundial
- A incidência sazonal corresponde aos padrões alimentares dos vetores; a maioria dos casos da doença de Lyme nos Estados Unidos ocorre no final da primavera e no início do verão (padrão alimentar da fase de ninfa dos carrapatos); pico em junho e julho

Febre Recorrente Epidêmica

- O agente etiológico é Borrelia recurrentis
- Transmissão pessoa a pessoa; reservatório seres humanos; vetor piolho do corpo humano
- Populações de risco são pessoas expostas a piolhos (doença epidêmica) em multidões ou em condições insalubres
- Ocorre na Etiópia, em Ruanda e no sopé dos Andes

Febre Recorrente Endêmica

- Causada por diversas espécies de Borrelia
- Transmitida de roedores para os seres humanos; reservatórios roedores, pequenos mamíferos e carrapatos moles;
 vetor carrapatos moles
- Populações de risco são pessoas expostas a carrapatos (doença endêmica) em áreas rurais
- Distribuição mundial e na parte ocidental dos Estados Unidos
- As espécies de *Borrelia* causam duas doenças humanas importantes: a doença de Lyme e a febre recorrente (epidêmica e endêmica).

Doencas

- As espécies de *Borrelia* causam duas doenças humanas importantes: a doença de Lyme e a febre recorrente (epidêmica e endêmica).
- As espécies de borrélias responsáveis pela febre recorrente são capazes de sofrer mudança antigênica e escapar da eliminação imune; períodos febris e sem febre resultam da variação antigênica

Diagnóstico

- Sorologia é o teste de escolha para a doença de Lyme
- PCR para a doença de Lyme está disponível, mas é relativamente insensível
- Microscopia é o teste de escolha para o diagnóstico da febre recorrente

Tratamento, Prevenção e Controle

- Para a doença de Lyme precoce localizada ou disseminada, o tratamento é realizado com amoxicilina, tetraciclina, cefuroxima; manifestações tardias são tratadas com ceftriaxona ou penicilina intravenosa
- Para febre recorrente, o tratamento é feito com tetraciclina ou eritromicina
- Melhores condições sanitárias para diminuir o risco de epidemia de febre recidivante
- Redução da exposição a carrapatos duros (doença de Lyme) e carrapatos moles (febre recorrente) com inseticidas, aplicação de repelentes de insetos nas roupas e uso de roupas de proteção que reduzem a exposição da pele a insetos

Leptospira

Palavras-gatilho

Espiroqueta fina espiralada, sintomas gripais, meningite asséptica, doença de Weil, zoonótica, exposição à água contaminada

Biologia e Virulência

• Espiroquetas espiralados e delgados (0,1 × 6 a 20 µm), que crescem lentamente em culturas especializadas

- Capazes de invadir e replicar diretamente em tecidos, induzindo resposta inflamatória
- Complexos imunes produzem a doença renal (glomerulonefrite)
- Geralmente doença branda, semelhante à síndrome viral
- Leptospirose sistêmica se apresenta mais comumente como meningite asséptica
- Doença potencialmente fatal (síndrome de Weil) caracterizada por colapso vascular, trombocitopenia, hemorragia, disfunções renal e hepática

Epidemiologia

- Reservatórios nos Estados Unidos: roedores (principalmente ratos), cães, animais de fazenda e selvagens
- Humanos: hospedeiro acidental da fase final
- Organismo pode penetrar a pele através de pequenas fissuras na epiderme
- As pessoas são infectadas com leptospiras pela exposição à água contaminada com urina de um animal infectado ou por manipulação de tecidos de um animal infectado
- Populações de risco são as expostas a córregos, rios e águas paradas contaminadas com urina; exposição ocupacional de trabalhadores rurais, manipuladores de carne e veterinários
- A infecção é rara nos Estados Unidos, mas tem distribuição mundial
- A doença é mais comum durante meses quentes (exposição recreacional)

Diagnóstico

- A microscopia não é útil, porque quase sempre existem raros organismos presentes nos fluidos ou nos tecidos
- Cultura de sangue ou líquido cefalorraquidiano (LCR) nos primeiros 7 a 10 dias da doença; urina após a primeira semana
- A sorologia usando aglutinação microscópica é relativamente sensível e específica, mas não amplamente disponível em países com recursos limitados; o teste ELISA é menos preciso, mas pode ser utilizado para triagem de pacientes

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratamento com penicilina ou doxiciclina
- Profilaxia com doxiciclina, mas não penicilina
- Vacinação de rebanhos e animais domésticos
- Controle de roedores

As bactérias na ordem *Spirochaetales* foram agrupadas conforme suas propriedades morfológicas comuns (Tabela 32-1).Os espiroquetas são bactérias Gram-negativas helicoidais e finas (0,1 a 0,5 × 5 a 20 µm). A ordem *Spirochaetales* é subdividida em quatro famílias e 14 gêneros, sendo três gêneros responsáveis por doenças humanas (*Treponema* e *Borrelia* na família Spirochaetaceae e *Leptospira* na família Leptospiraceae) (Tabela 32-2).



Tabela 32-1

Gêneros Clinicamente Importantes da Ordem Spirochaetales

Spirochaetales	Doença Humana	Agente Etiológico				
Família Spirochaetaceae						
Gênero Borrelia	Febre recorrente epidêmica	B. recurrentis				
	Febre recorrente endêmica	Várias espécies de Borrelia				
	Borreliose de Lyme	B. burgdorferi, B. garinii, B. afzelii				
Gênero Treponema	Sífilis venérea	T. pallidum subsp. Pallidum				
	Sífilis endêmica (bejel)	T. pallidum subsp. Endemicum				
	Bouba	T. pallidum subsp. Pertenue				
Família Leptospiraceae						
Gênero Leptospira	Leptospirose	Leptospira spp.				



Espiroquetas Importantes

Organismo	Origem Histórica
Тгеропета	trepo, "virar"; nema, "filamento" (filamento retorcido, referente à morfologia da bactéria)
T. pallidum	pallidum, "pálido" (referente a esses organismos não serem corados por corantes tradicionais)
Borrelia	em homenagem a A. Borrel
B. recurrentis	recurrens, "recorrente" (referência à febre reincidente)
B. hermsii	Hermsii, de hermsi (relacionado ao carrapato vetor Ornithodoros hermsii)
B. burgdorferi	em homenagem a W. Burgdorfer
Leptospira	lepto "delgado"; spira espiral (uma espiral delgada; referente à morfologia da bactéria)

Treponema

A espécie treponêmica mais importante que causa doença humana é *Treponema pallidum*, com três subespécies. As subespécies são distintas por suas características epidemiológicas, apresentação clínica, e variedade de hospedeiros em animais experimentais. *T. pallidum* subespécie *pallidum* (aqui referido *T. pallidum*) é o agente etiológico da **sífilis**; *T. pallidum* subespécie *endemicum* causa sífilis endêmica (**bejel**); e *T. pallidum* subespécie *pertenue* causa **bouba**. Bejel e bouba são doenças não venéreas.

Fisiologia e Estrutura

T. pallidum e treponemas patogênicos relacionados são espiroquetas finos, muito espiralados (0,1 a 0,2 × 6 a 20 μm), com extremidades afiladas. Os testes de diagnóstico tradicionais, como a microscopia e a cultura, são de pouco valor porque os espiroquetas são muito finos para serem observados com microscopia de luz em amostras coradas com coloração de Gram e Giemsa, e esses espiroquetas não crescem em culturas sem células. Crescimento limitado foi conseguido em células epiteliais de coelho, mas a replicação é lenta (tempo de geração de 30 horas) e pode ser mantida somente por algumas gerações. A dificuldade em cultivar *T. pallidum in vitro* decorre da falta do ciclo do ácido tricarboxílico e da dependência das células hospedeiras para obtenção de todas as purinas, pirimidinas e a maioria dos aminoácidos. Além disso, os espiroquetas são microaerofílicas ou anaeróbicas e extremamente sensíveis ao oxigênio, consistente com a descoberta que as bactérias não têm genes para catalase ou superóxido dismutase para protegê-las contra a toxicidade do oxigênio.

Patogênese e Imunidade

A incapacidade de obter grande quantidade de *T. pallidum in vitro* limita a detecção de fatores de virulência específicos. No entanto, a análise total do genoma e de propriedades estruturais exclusivas desse espiroqueta levou a algumas conclusões. Embora inúmeras lipoproteínas estejam localizadas na membrana citoplasmática bacteriana, a maioria, ou nenhuma, é exposta na superfície da membrana externa. Assim, a ausência de antígenos espécie-específicos na superfície permite que o espiroqueta escape do sistema imunológico. Ainda que sejam capazes de resistir à fagocitose, as bactérias podem aderir à fibronectina do hospedeiro, possibilitando interação direta com os tecidos. A análise da sequência do genoma demonstrou a presença de pelo menos cinco hemolisinas, mas ainda não é clara a sua contribuição para o dano tecidual. Do mesmo modo, foi proposto que a produção de hialuronidase facilitaria a infiltração perivascular, mas isto ainda não foi demonstrado. A maioria dos pesquisadores acredita que a destruição tecidual e as lesões observadas na sífilis são principalmente consequência da resposta imune do paciente à infecção.

Epidemiologia

A sífilis acontece em todo o mundo e é a terceira doença bacteriana sexualmente transmissível nos Estados Unidos (após infecções por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*). A incidência global da doença diminuiu, após o advento da terapia com penicilina, no início dos anos 1940, embora tenham sido observados aumentos periódicos de incidência, que correspondem a mudanças no comportamento sexual (uso de pílulas para controle de natalidade na década de 1960, saunas para homossexuais na década de 1970, aumento da prostituição relacionada com uso de cocaína e *crack* na década de 1990). No momento está ocorrendo aumento preocupante. Entre 2000 e 2012, a incidência da doença adquirida pela primeira vez aumentava a cada ano. Em 2012, os Centers for Disease Control and Prevention (CDC) relataram que havia quase 50.000 novos casos notificados de sífilis, com 15.667 casos de doença em estágio primário e secundário, as formas mais infecciosas de sífilis. O aumento da sífilis se dá principalmente em homens homossexuais. Isso reflete a percepção equivocada de que doenças sexualmente transmitidas, incluindo o vírus da imunodeficiência humana (HIV), podem ser efetivamente controladas com antibióticos, e que sexo sem proteção é considerado incorretamente uma atividade de baixo risco.

Infelizmente, pacientes infectados com sífilis com lesões genitais têm maior risco de transmitir e adquirir HIV. Assim, apesar do esforço conjunto dos órgãos de saúde pública para eliminar a sífilis, a doença continua sendo um grave problema para a população sexualmente ativa.

A sífilis é exclusiva de seres humanos e não há outros hospedeiros naturais conhecidos. *T. pallidum* é extremamente sensível, incapaz de sobreviver à exposição a ambientes secos ou desinfetantes. Assim, a sífilis não pode ser transmitida pelo contato com objetos inanimados, como assento de vasos sanitários. A rota mais comum de disseminação é o contato sexual direto. A doença também pode ser congênita ou adquirida por transfusão de sangue contaminado. Sífilis não é altamente contagiosa; o risco de contrair a doença após um único contato sexual é estimado em 30%. No entanto, o contágio é influenciado pela fase da doença no transmissor. *T. pallidum* é transferido principalmente durante as fases iniciais da doença, quando uma grande quantidade de organismos está presente nas lesões úmidas da pele ou de mucosas. Durante os estádios iniciais da doença, o paciente apresenta bacteremia intermitente e, se a doença não for tratada, a bacteremia pode persistir por até 8 anos. A transmissão congênita pode ocorrer em qualquer momento da gravidez. Mesmo depois de a bacteremia cessar, a doença pode permanecer ativa.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 32-1)

O curso clínico da sífilis evolui com três fases. A fase inicial ou **primária** é caracterizada por uma ou mais lesões cutâneas (**cancros**) no local em que o espiroqueta penetra (Fig. 32-1). A lesão desenvolve-se de 10 a 90 dias após a infecção inicial e começa como uma pápula, mas, em seguida, sofre erosão para tornar-se uma **úlcera indolor**, com bordas elevadas. O exame histológico da lesão revela endarterite e periarteritis (característica de lesões sifilíticas em todas as fases) e infiltração da úlcera com leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. As células fagocíticas ingerem os espiroquetas, mas os organismos frequentemente sobrevivem, com organismos abundantes presentes no cancro. Na maioria dos pacientes, linfadenopatia regional indolor desenvolve-se 1 a 2 semanas após o aparecimento do cancro, o que representa um foco local para a proliferação de espiroquetas e disseminação no sangue. O fato de essa úlcera cicatrizar espontaneamente dentro de 2 meses dá ao paciente uma falsa sensação de alívio.



FIGURA 32-1 Cancro primário do pênis. Lesão tipicamente indolor, a menos que esteja presente infecção bacteriana secundária. Grande quantidade de espiroquetas está presente na lesão. (De Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, et al: Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS, ed 4, London, 2010, Saunders.)

Na fase secundária, os sinais clínicos da doença disseminada aparecem com lesões cutâneas proeminentes dispersas sobre toda a superfície do corpo (Fig. 32-2). Nesse estádio, os pacientes tipicamente experimentam um estado semelhante ao de uma síndrome gripal, com dor de garganta, cefaleia, febre, mialgia (dores musculares), anorexia, linfadenopatia (gânglios linfáticos inchados) e exantema mucocutâneo generalizado. Os sintomas semelhantes aos da gripe e da linfadenopatia geralmente se manifestam primeiro, sendo seguidos por erupção disseminada dias mais tarde. O exantema pode variar (macular, papular, pustuloso) e cobrir toda a superfície cutânea (incluindo as palmas das mãos e plantas dos pés). As lesões, denominadas condiloma plano (condilomata lata), podem ocorrer em dobras úmidas da pele, e as erosões podem desenvolver-se na boca ou em outras mucosas. Tal como acontece com o cancro primário, essas lesões são altamente infecciosas. A erupção cutânea e os sintomas desaparecem espontaneamente dentro de algumas semanas e os pacientes podem sofrer remissão espontânea, entrar na fase clinicamente latente ou inativa da doença, ou progredir para a fase tardia da doença.



FIGURA 32-2 Exantema disseminado na sífilis secundária. (De Habif TP: Clinical dermatology: a color guide to diagnosis and therapy, ed 5, London, 2010, Mosby.)



Caso Clínico 32-1 História da Sífilis

A origem da sífilis tem sido discutida há décadas. O exame de restos mortais recuperados nas Américas, na Europa, na Ásia e na África pode ter resolvido o debate. A doença que conhecemos como sífilis provavelmente evoluiu a partir da bouba e, mais recentemente, bejel. Cada doença produz alterações ósseas distintas. Os primeiros indícios de doença treponêmica ocorreram na África e parece ter havido disseminação para as Américas por uma rota asiática. Quando Colombo navegou para as Américas, a sífilis estava bem estabelecida em todo o Novo Mundo, incluindo a República Dominicana, onde ele desembarcou. Por outro lado, não há evidência de sífilis na Europa, na África ou na Ásia précolombianas. Assim, é provável que a tripulação de Colombo tenha adquirido a doença no Novo Mundo e a introduzido no Velho Mundo, quando retornou para casa.

Cerca de um terço dos pacientes não tratados progride para o estádio terciário da sífilis. Os sintomas clínicos de uma inflamação crônica difusa, característicos do estádio terciário da sífilis, desenvolvem-se após período assintomático de

alguns anos a décadas, e podem causar destruição devastadora virtualmente em qualquer órgão ou tecido (p. ex., arterite, demência, cegueira). Lesões granulomatosas (**gomas**) podem ser encontradas em ossos, pele e outros tecidos. A nomenclatura da sífilis tardia reflete os órgãos envolvidos (p. ex., neurossífilis, sífilis cardiovascular). Tem sido documentado aumento de neurossífilis em pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), apesar do tratamento adequado para sífilis inicial. Além disso, os espiroquetas entram no sistema nervoso central durante as fases iniciais da doença, e sintomas neurológicos (p. ex., meningite) podem desenvolver-se nos primeiros meses da doença. Assim, a neurossífilis não é exclusivamente uma manifestação tardia.

Infecções intrauterinas (sífilis congênita) podem provocar doença fetal grave, resultando em infecções latentes, malformações em múltiplos órgãos ou morte do feto. A maioria das crianças infectadas nasce sem evidências clínicas da doença, mas desenvolve rinite, seguida por exantema cutâneo maculopapular descamativo disseminado. Malformação de dentes e ossos, cegueira, surdez e sífilis cardiovascular são comuns em crianças não tratadas que sobrevivem à fase inicial da doença.

Diagnóstico Laboratorial (Tabela 32-3)

Microscopia

Uma vez que *T. pallidum* é muito delgado para ser observado por microscópio óptico comum, deve ser usada a **microscopia de campo escuro** ou **colorações com corantes fluorescentes**. O diagnóstico da sífilis primária, secundária ou congênita pode ser feito rapidamente pelo exame do exsudato das lesões cutâneas em microscopia de campo escuro; entretanto, o teste é confiável apenas quando um microscopista experiente examina o material clínico imediatamente quando espiroquetas móveis possam ser observadas. Os espiroquetas não sobrevivem ao transporte para o laboratório, e restos de tecido podem ser confundidos com espiroquetas não viáveis. Material coletado de lesões orais e retais não deve ser analisado, porque espiroquetas não patogênicos podem ser observados rotineiramente nessas amostras. Em razão das limitações da microscopia de campo escuro, uma alternativa útil para a detecção de *T. pallidum* é o **teste de imunofluorescência direta**. Anticorpos monoclonais antitreponema ligados a moléculas fluorescentes são utilizados para corar a bactéria (Fig. 32-3). Um reagente com anticorpo monoclonal específico para treponemas patogênicos permite o exame de material oral e retal. Além disso, como espiroquetas não viáveis também são corados, não há necessidade de examinar as amostras imediatamente após a coleta.

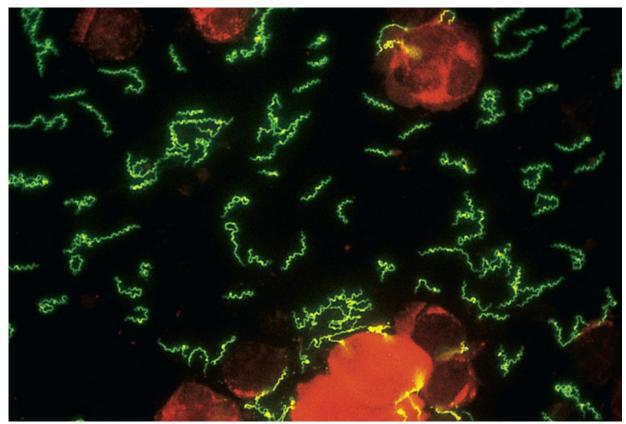


FIGURA 32-3 Treponema pallidum em imunofluorescência direta. (De Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, et al: Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS, ed 4, London, 2010, Saunders.)



Testes Diagnósticos para Sífilis

Teste Diagnóstico	Método ou Exame	
Microscopia	Campo escuro	
	Imunofluorescência direta	
Cultura	Não disponível	
Sorologia	Testes não treponêmicos: Teste Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) Teste da reagina plasmática rápida (RPR) Teste da reagina sérica a frio (USR) Teste da toluidina sérica vermelha a frio (TRUST)	
	Testes treponêmicos: Absorção de anticorpos treponêmicos fluorescentes (FTA-ABS) Teste de aglutinação de partículas para <i>Treponema pallidum</i> (TP-PA) Imunoensaio enzimático (EIA)	

Cultura

Não deve ser realizada cultura in vitro de T. pallidum porque o organismo não cresce em meios de cultura artificiais.

Testes com Ácidos Nucleicos

A metodologia de amplificação de ácidos nucleicos (reação em cadeia da polimerase [PCR]) foi desenvolvida para detecção de *T. pallidum* em lesões genitais, sangue de crianças e LCR, mas atualmente não está amplamente disponível.

Detecção de Anticorpos

Na maioria dos pacientes, a sífilis é diagnosticada por meio de testes sorológicos. São utilizados dois tipos de testes: os não específicos (não treponêmicos) e os específicos (treponêmicos). Os testes não treponêmicos são utilizados para rastreamento porque são de rápida execução e baixo custo. A reação positiva com qualquer um desses testes é confirmada por teste treponêmico.

Testes não treponêmicos medem as imunoglobulinas (Ig)G e IgM (também denominados anticorpos reagênicos) que se desenvolvem contra os lipídios liberados pelas células danificadas durante o estádio inicial da doença e que aparecem na superfície celular do treponema. O antígeno utilizado para testes não treponêmicos é a cardiolipina, que é derivada de coração bovino. Os dois testes mais comumente utilizados são Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) e teste rápido de reagina plasmática (RPR). Ambos medem a floculação do antígeno cardiolipina pelo soro do paciente. Somente o VDRL deve ser utilizado para testar LCR de pacientes com suspeita de neurossífilis. Outros testes não treponêmicos incluem o teste da reagina com soro não aquecido (USR) e o teste do vermelho de toluidina com soro não aquecido (TRUST). Todos os testes não treponêmicos têm praticamente a mesma sensibilidade (70 a 85% na doença primária, 100% na doença secundária e 70 a 75% na sífilis tardia) e especificidade (98 a 99%).

Os testes treponêmicos utilizam *T. pallidum* como antígeno para detectar anticorpos anti-*T. pallidum*. Na sífilis inicial, os resultados desses testes podem ser positivos antes dos testes não treponêmicos, e em alguns pacientes com sífilis tardia podem permanecer positivos mesmo após os testes inespecíficos terem revertido para negativos. Historicamente, o teste específico mais comum foi o **teste de absorção de anticorpo treponêmico fluorescente** (**FTA-ABS**). Este é um teste de imunofluorescência indireta, em que o antígeno é o *T. pallidum* fixado em lâmina. A lâmina é coberta com soro do paciente previamente misturado com extrato de treponemas não patogênicos. Anticorpos anti-humanos marcados com fluoresceína são adicionados para detectar a presença de anticorpos específicos no soro do paciente. Já que esses testes são de difícil interpretação, muitos laboratórios utilizam o **teste de aglutinação de partículas para** *Treponema pallidum* **(TP-PA)** ou um teste de **imunoensaio de enzima** (**EIA**) com enzimas específicas. O TP-PA é um teste de aglutinação em microplaca. Partículas de gelatina sensibilizadas com antígenos de *T. pallidum* são misturadas com diluições do soro do paciente. Na presença de anticorpos, as partículas aglutinam. Foram desenvolvidos vários testes específicos de EIE que parecem ser sensíveis (80 a 95% na sífilis primária e 100% nas sífilis secundária e tardia) e com especificidade (96 a 99%) semelhante à dos testes FTA-ABS e TP-PA. Esses imunoensaios são amplamente utilizados em países com recursos limitados, nos quais o rastreio com testes não treponêmicos tradicionais e aplicação dos testes treponêmicos mais sensíveis, como FTA--ABS é impraticável.

Em consequência do desenvolvimento tardio de reações positivas para os testes não treponêmicos na fase primária da doença, a sorologia é negativa em alguns pacientes que se apresentam com cancro. No entanto, em 3 meses os resultados sorológicos se tornam positivos em todos os pacientes e continuam positivos em pacientes com sífilis secundária não tratada. Os títulos de anticorpos diminuem lentamente em pacientes não tratados e os resultados sorológicos são negativos em cerca de 25 a 30% dos pacientes com sífilis tardia. Assim, a limitação dos testes não treponêmicos é a reduzida

sensibilidade no início da doença primária e na sífilis tardia. Embora os resultados dos testes treponêmicos geralmente permaneçam positivos por toda a vida, o teste negativo não é confiável em pacientes com AIDS.

O sucesso do tratamento da sífilis primária ou secundária, e em menor extensão, da sífilis tardia, acarreta diminuição dos títulos medidos pelos testes VDRL e RPR. Assim, esses testes podem ser utilizados para monitorar a eficácia do tratamento, embora a sororreversão seja lenta nos pacientes em estádio avançado da doença, naqueles com títulos iniciais altos e naqueles que tiveram sífilis anteriormente. Os testes treponêmicos são menos influenciados pelo tratamento do que os testes VDRL e RPR, sendo a sororreversão observada em menos de 25% dos pacientes tratados, com sucesso, durante a fase primária da doença.

Reações falso-positivas transitórias dos testes não treponêmicos são observadas em pacientes com doenças febris agudas, após imunizações e em mulheres grávidas. As reações falso-positivas duradouras ocorrem mais frequentemente em pacientes com doenças autoimunes crônicas ou infecções que envolvam o fígado ou que causem grande destruição tecidual. Nos testes treponêmicos, a maioria das reações falso-positivas é observada em pacientes com níveis elevados de imunoglobulinas e com doenças autoimunes (Quadro 32-1).



Quadro 32-1 Condições Associadas a Resultados Falso-positivos de Testes

Sorológicos

Ensaios não Treponêmicos

Infecção viral

Artrite reumatoide

Lúpus eritematoso sistêmico

Doença aguda ou crônica

Gravidez

Imunização recente

Drogadição

Hanseníase

Malária

Transfusões sanguíneas múltiplas

Ensaios Treponêmicos

Piodermia

Artrite reumatoide

Lúpus eritematoso sistêmico

Psoríase

Ulceração na coxa

Neoplasia cutânea

Drogadição

Micoses

Doença de Lyme

Acne vulgar

O diagnóstico de sífilis congênita e neurossífilis pode ser problemático. O diagnóstico da neurossífilis é baseado em sintomas clínicos e resultados laboratoriais. O VDRL no LCR é altamente específico, mas não sensível. Assim, um VDRL positivo confirma o diagnóstico, mas o resultado negativo não descarta a possibilidade. Ao contrário, o FTA-ABS tem alta sensibilidade e baixa especificidade em razão da transferência passiva de anticorpos do sangue para o LCR. Nesse caso, um teste positivo é consistente com neurossífilis, mas não é diagnóstico, e o teste negativo praticamente descarta o diagnóstico. Em crianças de mães infectadas, testes sorológicos positivos podem representar transferência passiva de anticorpos ou resposta imunológica à infecção congênita. A distinção pode ser feita medindo-se os títulos por 6 meses. Nas crianças não infectadas, os títulos diminuem a níveis não detectáveis em, no máximo, 3 meses após o nascimento, enquanto nas crianças com sífilis congênita os níveis permanecem elevados.

Tratamento, Prevenção e Controle

Penicilina é o fármaco de escolha para o tratamento de infecções por *T. pallidum*. Uma única dose intramuscular de **penicilina** G benzatina de ação prolongada é utilizada nas fases iniciais da sífilis e três doses em intervalos semanais são recomendadas para sífilis congênita e tardia. **Doxiciclina** ou **azitromicina** pode ser utilizada como alternativa para paciente alérgicos à penicilina. Somente penicilina pode ser administrada para tratamento da neurossífilis; assim, pacientes administrados devem ser submetidos à dessensibilização. Isso também ocorre para mulheres grávidas, que não devem ser tratadas com tetraciclina. Tratamento com macrolídeos tem mostrado falha, de modo que pacientes tratados com azitromicina devem ser monitorados de perto.

Como não existem vacinas disponíveis, o controle da sífilis pode ser feito apenas por meio de prática de sexo seguro, contato adequado e tratamento de parceiros sexuais de pacientes com infecção documentada. O controle da sífilis, e de outras DST, tornou-se mais difícil pelo aumento da prostituição entre dependentes químicos e de práticas sexuais de alto risco entre homossexuais do sexo masculino.

Borrelia

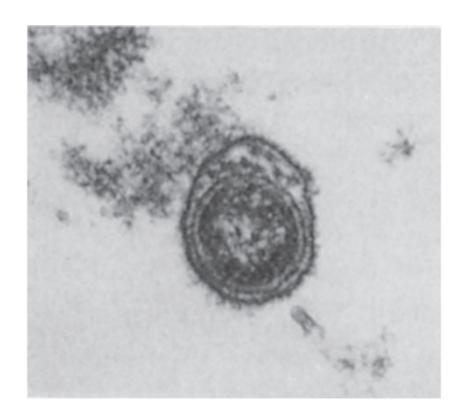
Os membros do gênero Borrelia causam duas doenças humanas importantes: a doença de Lyme e a febre recorrente. A história registrada da doença de Lyme teve início em 1977, quando um grupo incomum de crianças com artrite foi observado em Lyme, Connecticut. Cinco anos mais tarde, W. Burgdorfer descobriu o espiroqueta responsável pela doença. A doença de Lyme é transmitida por carrapatos e tem diversas manifestações, incluindo alterações dermatológicas, reumatológicas, neurológicas e cardíacas. Inicialmente, acreditava-se que todos os casos da doença de Lyme (ou borreliose de Lyme) eram causados por um único organismo, B. burgdorferi. No entanto, estudos posteriores mostraram que um complexo de pelo menos 10 espécies de Borrelia é responsável pela doença de Lyme em animais e seres humanos. Três espécies — B. burgdorferi, B. garinii, B. afzelii — causam doenças humanas, sendo B. burgdorferi encontrada nos Estados Unidos e na Europa, e B. garinii e B. afzelii, na Europa e na Ásia. Este capítulo foca a infecção causada por B. burgdorferi. A febre recorrente clássica é uma doença febril caracterizada por episódios recorrentes de febre e septicemia, separados por períodos afebris. São conhecidas duas formas da doença. Borrelia recurrentis é o agente etiológico da febre epidêmica ou febre recorrente do piolho, disseminado pessoa a pessoa pelo piolho do corpo humano (Pediculus humanus). A febre recorrente endêmica é ocasionada por cerca de 15 espécies de Borrelia e é propagada por carrapatos moles do gênero Ornithodoros.

Fisiologia e Estrutura

Membros do gênero *Borrelia* coram-se fracamente pelos corantes de Gram, não sendo considerados nem Gram-positivos nem Gram-negativos, mesmo tendo a membrana externa semelhante à das bactérias Gram-negativas. Eles são maiores que outros espiroquetas (0,2 a 0,5 × 8 a 30 μm), coram-se bem por corantes de anilina (colorações de Giemsa ou Wright) e podem ser facilmente observados por microscopia óptica em esfregaços de sangue periférico de pacientes com febre recorrente, mas não daqueles com doença de Lyme (muito poucos organismos para serem observados) (Figs. 32-4 e 32-5). Borrélias são microaerófilas e apresentam necessidades nutricionais complexas (i.e., requerem *N*-acetilglicosamina, ácidos graxos saturados e insaturados de cadeia longa, glicose e aminoácidos), o que os torna difíceis de crescer no laboratório. As espécies que têm sido cultivadas com sucesso apresentam tempo de geração de 18 horas ou mais. Em razão de a cultura geralmente não ter sucesso, o diagnóstico de doenças causadas por borrélias é realizado por sorologia (doença de Lyme) ou microscopia (febre recorrente).



FIGURA 32-4 Borrelia no sangue de paciente com febre recorrente endêmica (coloração de Giemsa).



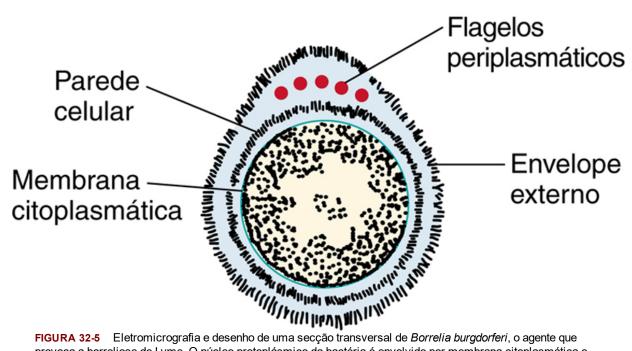


FIGURA 32-5 Eletromicrografia e desenho de uma secção transversal de *Borrelia burgdorferi*, o agente que provoca a borreliose de Lyme. O núcleo protoplásmico da bactéria é envolvido por membrana citoplasmática e parede celular convencional. Esta, por sua vez, é rodeada por envelope externo ou bainha. Entre o núcleo e a bainha exterior protoplásmica estão os flagelos periplasmáticos (também chamados de *fimbrias axiais*), que estão ancorados em cada extremidade da bactéria e ao entorno do núcleo protoplásmico. (De Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, et al: The spirochetal etiology of Lyme disease, *N Engl J Med* 308:733–740, 1983.)

Patogênese e Imunidade

O crescimento de borrélias, tanto em vetores artrópodes como em mamíferos, é regulado por diferente expressão gênica, com regulação positiva ou negativa de proteínas de superfície. Por exemplo, a proteína A de superfície externa (OspA) é expressa na superfície de *B. burgdorferi* residente no intestino médio de carrapatos em jejum. Essa proteína liga-se especificamente a proteínas do intestino. Durante a alimentação, a expressão dessa proteína é reprimida, possibilitando que o espiroqueta migre para as glândulas salivares, e a expressão da proteína C de superfície externa (OspC), que parece crítica na transmissão do carrapato aos mamíferos, é positivamente regulada. Infelizmente, o conhecimento da sequência completa do genoma *B. burgdorferi* não resultou em compreensão clara de como esses organismos causam doença. *B. burgdorferi* está presente em pequeno número na pele quando o eritema migratório se desenvolve. Isso tem sido demonstrado pela cultura do organismo de lesões cutâneas ou pela detecção de ácidos nucleicos bacterianos por PCR; entretanto, cultura e PCR têm relativamente pouca sensibilidade na fase inicial. Além disso, na doença tardia raramente são isolados espiroquetas a partir

de material clínico. Não se sabe se as manifestações tardias da doença são causadas por organismos viáveis ou se representam reatividade imune cruzada com antígenos de *Borrelia*. Embora a resposta imune seja diminuída quando as lesões cutâneas iniciais se desenvolvem, anticorpos são produzidos durante meses a anos e são responsáveis pela eliminação das borrélias, mediada pelo complemento.

O entendimento dos mecanismos pelos quais borrélias ocasionam febre recorrente é incompleto. Os membros do gênero não produzem toxinas conhecidas e são rapidamente eliminados quando há resposta com anticorpo específico. Os períodos cíclicos febris e afebris da febre recorrente resultam da capacidade das borrélias em sofrer variação antigênica. Esses espiroquetas carregam grande quantidade de genes homólogos ao gene OspC, mas apenas um desses genes é expresso de cada vez. Quando anticorpos específicos são formados, ocorre lise mediada pelo complemento e as borrélias são rapidamente eliminadas da corrente sanguínea. No entanto, mudança da expressão dessa família de genes acontece com frequência de 10^{-3} a 10^{-4} por geração. Assim, uma nova população de espiroquetas com uma nova camada de lipoproteína aparecerá no sangue, anunciando um novo episódio febril. Essas mudanças antigênicas são a razão de os testes sorológicos não serem usados para diagnosticar a febre recorrente.

Epidemiologia

Apesar do reconhecimento relativamente recente da doença de Lyme nos Estados Unidos, estudos retrospectivos mostraram que a doença estava presente por muitos anos neste e em outros países. A doença de Lyme tem sido descrita nos seis continentes, em muitos países e em todos os estados dos Estados Unidos. A incidência da doença aumentou drasticamente entre 1982 (497 casos notificados) e 2012 (>30.000 casos notificados). A doença de Lyme é a principal doença transmitida por vetor nos Estados Unidos. Em 2012, 95% dos casos de doença de Lyme foram relatados a partir de dois focos nos Estados Unidos: o nordeste e os estados centrais atlânticos (de Maine a Virgínia) e o centro-oeste superior (Minnesota e Wisconsin). Nos últimos anos, a prevalência da doença de Lyme no Pacífico Ocidental diminuiu para níveis baixos. Carrapatos duros são os principais vetores da doença de Lyme: *Ixodes scapularis* no nordeste, no centro Atlântico e no centro-oeste e *I. pacificus* na costa oeste. *I. ricinus* é o principal vetor na Europa e *I. persulcatus* é o principal vetor na Europa Oriental e na Ásia. Os principais reservatórios nos Estados Unidos são o camundongo de patas brancas e o cervo de cauda branca. O camundongo de patas brancas é o principal hospedeiro das formas de larva e ninfa de *Ixodes*, e sua forma adulta infecta o cervo de cauda branca. Em virtude de a fase de ninfa provocar mais de 90% dos casos documentados da doença, o camundongo é o hospedeiro mais relevante para doenças humanas.

As larvas de *Ixodes* tornam-se infectadas quando se alimentam no camundongo. A larva se transforma em ninfa no final da primavera e realiza uma segunda ingesta de sangue; nesse momento, os seres humanos podem ser hospedeiros acidentais. Embora as borrélias sejam transmitidas pela saliva do carrapato durante prolongado período de alimentação (≥48 horas), a maioria dos pacientes não se lembra de ter sido mordida por um carrapato, porque a ninfa é do tamanho de uma semente de papoula. As ninfas maturam no final do verão e fazem uma terceira alimentação. Embora o cervo de cauda branca seja o hospedeiro natural, os seres humanos também podem ser infectados nesse estádio. A maioria dos pacientes infectados é identificada de junho a julho, ainda que a doença possa ser observada durante todo o ano.

Como mencionado, o agente etiológico da febre recorrente endêmica é o *B. recurrentis*, o vetor humano é o piolho, e o ser humano é o único reservatório (Fig. 32-6). Os piolhos tornam-se infectados após se alimentar do sangue da pessoa infectada. As bactérias são ingeridas, passam através da parede do intestino e se multiplicam na hemolinfa. Acredita-se que a doença disseminada não ocorra em piolhos; assim, a infecção humana se dá por esmagamento dos piolhos durante a alimentação. Já que os piolhos infectados não sobrevivem por mais de poucos meses, a manutenção da doença depende de aglomeração de pessoas e condições sanitárias precárias (p. ex., guerras, desastres naturais), que permitam contato humano frequente com piolhos infectados. Apesar de epidemias de febre recorrente transmitidas por piolhos terem sido banidas da Europa no século passado, atualmente a doença parece restrita a Etiópia, Eritreia, Somália e Sudão.

Infecção	Reservatórios	Vetor
Febre epidêmica recorrente	Humanos	Piolho do corpo
Febre endêmica recorrente	Roedores, carrapatos moles	Carrapato mole
Doença de Lyme	Roedores, veado, animais domésticos, carrapatos duros	Carrapato duro

FIGURA 32-6 Epidemiologia de infecções por Borrelia.

Várias características distinguem a **febre recorrente endêmica** da doença epidêmica. A febre recorrente endêmica transmitida por carrapatos é uma **doença zoonótica**, tendo como principais reservatórios roedores, pequenos mamíferos e carrapatos moles (espécies do gênero *Ornithodoros*) e **diversas espécies de** *Borrelia* como responsáveis pela doença. Ao contrário das infecções transmitidas pelo piolho, as borrélias da doença endêmica produzem infecção disseminada no carrapato. Além disso, os artrópodes podem sobreviver e se manter como reservatório endêmico pela transmissão transovariana. Mais ainda, os carrapatos podem sobreviver por meses entre as alimentações. A história de mordida de carrapato pode não ser esclarecida, porque carrapatos moles apresentam hábitos alimentares noturnos e ficam aderidos apenas por alguns minutos. Os carrapatos contaminam o local da ferida da mordida com borrélias presentes na saliva ou nas fezes. A doença transmitida por carrapatos é encontrada em todo o mundo, correspondendo à distribuição dos carrapatos do gênero *Ornithodoros*. Nos Estados Unidos, a doença é encontrada principalmente nos estados ocidentais, com Washington e Califórnia sendo os mais comuns. No mundo como um todo, a doença é encontrada no México, nas Américas Central e do Sul, no Mediterrâneo, na Ásia Central e em grande parte da África.

Doenças Clínicas

Doença de Lyme (Caso Clínico 32-2)

O diagnóstico clínico da doença de Lyme é complicado pela variedade de manifestações da doença causada por *B. burgdorferi* e outras espécies do gênero *Borrelia*, bem como pela falta de testes diagnósticos confiáveis. As definições clínica e laboratorial da doença de Lyme, que são recomendadas pelo CDC, estão resumidas no Quadro 32-2. O parágrafo seguinte é uma descrição da doença de Lyme nos Estados Unidos. A frequência de lesões cutâneas e as manifestações tardias da doença diferem das observadas em outros países.



Caso Clínico 32-2 Doença de Lyme em Lyme, Connecticut

Em 1977, Steere e colaboradores (*Arthritis Rheum* 20:7-17, 1977) relataram epidemia de artrite no leste de Connecticut. Os autores estudaram um grupo de 39 crianças e 12 adultos que desenvolveram doença caracterizada por crises recorrentes de inchaço e dores em algumas articulações grandes. A maioria dessas manifestações durava 1 semana ou menos, mas algumas duraram meses. Vinte e cinco por cento dos pacientes lembraram que haviam apresentado lesões cutâneas eritematosas 4 semanas antes do início da artrite. Esse foi o primeiro relato da doença de Lyme, nomeada em

homenagem à cidade de Lyme, em Connecticut, onde a doença foi reconhecida pela primeira vez. Sabemos, agora, que a lesão eritematosa (eritema migratório) é a apresentação característica inicial da doença de Lyme. Poucos anos depois desse relato, a borrélia responsável pela doença de Lyme, *B. burgdorferi*, foi isolada.



Quadro 32-2 Definição da Doença de Lyme

Definição de Caso Clínico

Qualquer uma das Seguintes Opções:

Eritema migratório (≈5 cm de diâmetro)

Pelo menos uma manifestação tardia (i.e., envolvimento musculoesquelético, do sistema nervoso ou cardiovascular) e confirmação laboratorial de infecção

Critérios Laboratoriais para o Diagnóstico

Pelo Menos um dos Seguintes:

Isolamento de Borrelia burgdorferi

Demonstração de níveis diagnósticos de anticorpos, imunoglobulinas (Ig)M ou IgG para os espiroquetas Aumento significativo do título de anticorpos entre amostras séricas da fase aguda e de convalescença

A doença de Lyme inicia-se como uma infecção localizada que progride a um estádio disseminado precoce e, se não tratada, pode evoluir para estádio de manifestação tardia. Após período de incubação de 3 a 30 dias, normalmente se desenvolve uma ou mais lesões cutâneas no local da picada do carrapato. A lesão (eritema migratório) começa com pequena mácula ou pápula e aumenta ao longo das semanas seguintes, finalmente abrangendo uma área de 5 a mais de 50 cm de diâmetro (Fig. 32-7). A lesão tipicamente apresenta borda vermelha plana com clareamento central à medida que se desenvolve; porém, eritema, formação de vesículas e necrose central também podem ser observados. A lesão regride e desaparece em semanas, embora novas lesões transitórias possam surgir posteriormente. Ainda que a lesão cutânea seja característica da doença de Lyme, não é patognomônica. Uma lesão cutânea similar associada a doença de etiologia desconhecida (STARI, do inglês, southern tick-associated rash ilness/doença eritematosa associada com carrapato do sul dos Estados Unidos) ocorre após a picada do carrapato Amblyomma americanum (carrapato-estrela). Esses carrapatos, encontrados nas regiões sul e centro-sul dos Estados Unidos, não estão infectados com B. burgdorferi. Outros sinais e sintomas precoces da doença de Lyme incluem mal-estar, fadiga grave, cefaleia, febre, calafrios, dores nos músculos esqueléticos, mialgia e linfadenopatia. Esses sintomas duram em média 4 semanas.



FIGURA 32-7 Eritema cutâneo migratório na coxa do filho do autor (PRM). Uma ninfa do carrapato *Ixodes* foi encontrada 3 dias após a exposição. Doze dias depois apareceu erupção cutânea, acompanhada de dor localizada e progressão até 5 cm de diâmetro, com clareamento central. A erupção cutânea diminuiu durante a próxima semana por tratamento com doxiciclina, e a infecção, confirmada por cultura da biópsia, resolveu-se sem complicações secundárias.

Em pacientes não tratados há difusão hematogênica em dias ou semanas após a infecção primária. Essa fase é caracterizada por sinais de doença sistêmica (p. ex., fadiga grave, cefaleia, febre e mal-estar), artrite e artralgia, mialgia, lesões eritematosas cutâneas, disfunção cardíaca e sinais neurológicos. Aproximadamente 60% dos pacientes com doença de Lyme não tratada desenvolverão **artrite**, em geral envolvendo o joelho; cerca de 10 a 20% desenvolverão **manifestações neurológicas** (mais comumente paralisia do nervo facial) e 5% terão **complicações cardíacas** (geralmente graus variáveis de bloqueio atrioventricular).

Manifestações do estádio tardio da doença de Lyme em pacientes não tratados podem desenvolver-se em meses a anos após a infecção inicial. Artrite pode envolver uma ou mais articulações de modo intermitente. O envolvimento cutâneo crônico com descoloração da pele e inchaço (acrodermatite crônica atrofiante; Fig. 32-8) é mais comum na doença de Lyme na Europa. A existência da doença de Lyme sintomática crônica em pacientes tratados adequadamente ainda não foi demonstrada.



FIGURA 32-8 Acrodermatite atrófica crônica. Lesões de pele vermelho-azuladas, características das manifestações disseminadas e tardias da borreliose de Lyme. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: Infectious diseases, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)

Febre Recorrente (Caso Clínico 32-3)

As apresentações clínicas da febre recorrente epidêmica transmitida por piolho e da febre endêmica transmitida por carrapatos são essencialmente iguais, embora uma escara pequena pruriginosa possa se desenvolver no local da picada do carrapato. Após 1 semana de incubação, a doença é anunciada pelo início abrupto de calafrios, tremores, febre, dores musculares e cefaleia. Espleno- e hepatoesplenomegalia são comuns. Esses sintomas correspondem à fase de bacteremia da doença e desaparecem em 3 a 7 dias, quando as borrélias são eliminadas do sangue. A bacteremia e a febre retornam após 1 semana de período não febril. Os sintomas clínicos geralmente são mais leves e duram menos tempo nos **episódios febris** subsequentes. Uma única recaída é característica da doença epidêmica transmitida por piolhos e pelo menos 10 recidivas ocorrem na doença endêmica transmitida por carrapatos. O curso clínico e os resultados da febre recorrente epidêmica tendem a ser mais graves do que na doença endêmica, mas isso pode estar relacionado com o estado precário de saúde dos pacientes. A mortalidade na doença endêmica é inferior a 5%, mas pode chegar a 70% na doença epidêmica transmitida por piolho. As mortes são causadas por insuficiência cardíaca, necrose hepática ou hemorragia cerebral.



Caso Clínico 32-3 Surto de Febre Recorrente Transmitida por Carrapato

Em agosto de 2002, o Departamento de Saúde do Novo México foi notificado sobre um surto de febre recorrente transmitida por carrapatos (*MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 52:809-812, 2003). Aproximadamente 40 pessoas estavam em uma reunião familiar, realizada em uma cabana nas montanhas do norte do Novo México. Metade dos membros da família dormiu uma noite na cabana. Alguns familiares chegaram 3 dias antes do evento para limpar a cabana, que estava desocupada. Quatro dias após o evento, uma das pessoas que chegaram primeiro procurou atendimento em um hospital local, apresentando história de 2 dias de febre, calafrios, mialgia e erupção cutânea pruriginosa nos antebraços. Foram observados espiroquetas em esfregaço do sangue periférico. Pelo menos 14 pessoas que participaram do encontro desenvolveram sintomas compatíveis com febre recorrente e tiveram sorologia positiva ou espiroquetas observados em esfregaços sanguíneos. A maioria apresentava história de febre, cefaleia, artralgia e mialgia. Material de ninho de roedores foi encontrado dentro das paredes interiores da cabana. Esse surto de febre recorrente endêmica ilustra os riscos associados com exposição a carrapatos que se alimentam de roedores infectados, o fato de as picadas do carrapato geralmente não serem lembradas, porque a alimentação é rápida e ocorre durante a noite, e a natureza reincidente dessa doença febril.

Diagnóstico Laboratorial

O exame microscópico de sangue ou tecidos de pacientes com doença de Lyme não é recomendável, pois *B. burgdorferi* raramente é observado em amostras clínicas. Borrélias que ocasionam febre recorrente podem ser observadas em esfregaço de sangue coletado durante o período febril, utilizando-se coloração Giemsa ou Wright. Esse é o método mais sensível para o diagnóstico de febre recorrente, com esfregaços positivos em mais de 70% dos pacientes.

Cultura

Algumas borrélias, incluindo *B. recurrentis* e *B. hermsii* (uma causa comum de febre recorrente endêmica nos Estados Unidos), podem ser cultivadas *in vitro* em meios específicos. Culturas raramente são realizadas em laboratórios clínicos, porque os meios não estão disponíveis e o crescimento é lento. Ainda que o isolamento tenha sido otimizado pela utilização de meios especializados, o sucesso no cultivo de *B. burgdorferi* é limitado. A sensibilidade do cultivo é baixa para todos os espécimes, exceto amostras da lesão cutânea inicial.

Testes com Ácidos Nucleicos

Técnicas de amplificação de ácidos nucleicos têm sensibilidade de 65 a 75% em biópsia de pele, 50 a 85% em líquido sinovial, e 25% em LCR de pacientes com doença de Lyme documentada. Os testes geralmente são restritos a laboratórios de pesquisa e de referência e os resultados devem ser confirmados por cultura ou sorologia.

Detecção de Anticorpo

Testes sorológicos não são úteis no diagnóstico de febre recorrente, porque as borrélias sofrem variação antigênica de fase. Por outro lado, a sorologia é o teste de escolha para pacientes com suspeita de doença de Lyme. Os testes mais utilizados são a **imunofluorescência indireta (IFA)** e **imunoensaio enzimático (EIA)**. A FDA aprovou a utilização de mais de 70 testes sorológicos para o diagnóstico da doença de Lyme. Infelizmente, todos são relativamente insensíveis durante a fase aguda inicial da doença. Anticorpos IgM surgem 2 a 4 semanas após o aparecimento do eritema migratório em pacientes não tratados, os níveis atingem o pico em 6 a 8 semanas de doença e decrescem ao normal após 4 a 6 meses. O nível de IgM pode permanecer elevado em alguns pacientes com infecção persistente. Os anticorpos IgG aparecem mais tarde. O pico ocorre após 4 a 6 meses da doença e persiste durante a manifestação tardia da doença. Assim, a maioria dos pacientes com complicações tardias da doença de Lyme apresenta anticorpos para *B. burgdorferi*, embora o nível de anticorpos possa ser suprimido em pacientes tratados com antibióticos. A detecção de anticorpos no LCR é uma forte evidência de neuroborreliose.

Embora reações cruzadas sejam incomuns, resultados sorológicos positivos devem ser interpretados com cuidado, especialmente se os títulos estão baixos (Quadro 32-3). A maioria dos resultados falso-positivos acontece em pacientes com sífilis. Esses resultados podem ser excluídos realizando-se um teste não treponêmico para sífilis; o resultado é negativo em pacientes com doença de Lyme. Western blot tem sido usado para confirmar a especificidade de uma reação positiva de EIA ou IFA. Amostras com reações negativas não precisam de teste posteriores. Orientações para a interpretação de Western immunoblots estão disponíveis no site do CDC (www.cdc.gov). A heterogeneidade antigênica de B. burgdorferi e de outras espécies que causam a doença de Lyme afeta a sensibilidade do teste. Nos Estados Unidos, a magnitude desse problema é desconhecida, mas deve ser significativa na Europa e na Ásia, onde múltiplas espécies de Borrelia ocasionam a doença de Lyme. Atualmente, os testes sorológicos devem ser considerados confirmatórios e não devem ser realizados na ausência de história clínica e sintomas compatíveis com a doença de Lyme.



Quadro 32-3 Bactérias e Doenças Associadas a Reações Cruzadas nos Testes

Sorológicos para Borreliose de Lyme

Treponema pallidum
Espiroquetas orais
Outras espécies de Borrelia
Artrite reumatoide juvenil
Artrite reumatoide
Lúpus eritematoso sistêmico
Mononucleose infecciosa

Endocardite bacteriana subaguda

Tratamento, Prevenção e Controle

As manifestações iniciais da **doença de Lyme** são tratadas eficazmente com **amoxicilina**, **doxiciclina** ou **cefuroxima** administrada por via oral. O tratamento com antibiótico diminui as chances e a gravidade de complicações tardias. Apesar dessa intervenção, artrite de Lyme e acrodermatite crônica atrofiante ocorrem em pequeno número de pacientes. Cefuroxima, doxiciclina ou amoxicilina tem sido utilizada para tratamento oral dessas manifestações. Pacientes com artrite recorrente ou doença do sistema nervoso central ou periférico necessitam de tratamento parenteral com ceftriaxona, cefotaxima ou penicilina G intravenosas. Pacientes com sintomas crônicos

previamente tratados ("síndrome pós-Lyme") devem ser medicados sintomaticamente, pois não há evidências de que múltiplos usos de antibióticos por via oral ou parenteral aliviem os sintomas.

A febre recorrente tem sido tratada de maneira mais eficaz com tetraciclinas ou penicilinas. As tetraciclinas são os fármacos de escolha, mas são contraindicadas em mulheres grávidas e crianças pequenas. Reação de Jarisch-Herxheimer (perfil semelhante ao choque, com calafrio, leucopenia, aumento de temperatura e diminuição da pressão arterial) pode ocorrer poucas horas após o início do tratamento e deve ser acompanhada com cuidado. Essa reação corresponde à rápida morte das borrélias e à possível liberação de produtos tóxicos.

A prevenção de doenças transmitidas por carrapato causadas por *Borrelia* inclui evitar o contato com carrapatos e seus *hábitats* naturais, usar roupas protetoras (p. ex., calças compridas embutidas em meias) e aplicar repelentes de insetos. O controle de roedores também é importante na prevenção da febre recorrente endêmica. A doença epidêmica transmitida por piolhos é controlada mediante pulverização e melhoria das condições higiênicas.

Não existem vacinas disponíveis para febre recorrente. Uma vacina recombinante dirigida contra o antígeno OspA de *B. burgdorferi* foi retirada do mercado em 2002.

Leptospira

A taxonomia do gênero *Leptospira* é bastante confusa. Tradicionalmente, o gênero tem sido agrupado por características fenotípicas, relação sorológica e patogenicidade. As cepas patogênicas foram agrupadas na espécie *Leptospira interrogans*, e as espécies não patogênicas, na *Leptospira biflexa*. Cada uma das duas espécies continha diversos sorovares (i.e., grupos sorologicamente distintos). Embora esse esquema de classificação exista na literatura, ele não é coerente com a análise de ácidos nucleicos, que sugere a subdivisão do gênero em três outros, contendo 17 espécies no gênero *Leptospira*. Para evitar confusão, leptospiras serão referidas como patogênicas (para humanos) ou não patogênicas, sem referências a espécies ou sorotipos.

Fisiologia e Estrutura

Leptospiras são **espiroquetas espiralados e delgados** $(0.1 \times 6 \text{ a } 20 \text{ }\mu\text{m})$, com um gancho em uma ou ambas as extremidades afiladas (Fig. 32-9). A motilidade ocorre por dois flagelos periplasmáticos que se estendem por toda a superfície bacteriana e são ancorados nos extremos opostos. Leptospiras são aeróbios estritos com temperatura ótima de crescimento entre 28 e 30°C , e crescimento em meios suplementados com vitaminas, ácidos graxos de cadeia longa e sais de amônio. O significado prático disso é que esses organismos podem ser cultivados em um meio específico a partir de amostras clínicas coletadas de pacientes infectados, embora isso não seja comumente feito.



FIGURA 32-9 Coloração de prata de leptospiras crescidas em cultivo. Note o corpo firmemente enrolado com extremidades curvas. (De Emond R, Rowland H: Color atlas of infectious diseases, ed 3, London, 1995, Wolfe.)

Patogênese e Imunidade

As leptospiras patogênicas podem causar infecção subclínica, doença febril branda semelhante à gripe ou doença sistêmica grave (síndrome de Weil), com insuficiências renal e hepática, vasculite extensiva, miocardite e morte. A gravidade da doença é influenciada pelo número de organismos infectantes, pelas defesas imunológicas do hospedeiro e pela virulência da cepa infectante.

As leptospiras são delgadas e altamente móveis, podendo penetrar na pele ou membranas mucosas intactas através de pequenos cortes ou abrasões cutâneas. Podem, então, disseminar-se no sangue para todos os tecidos, incluindo o sistema nervoso central. *L. interrogans* multiplica-se rapidamente e danifica o endotélio de pequenos vasos sanguíneos, resultando nas principais manifestações clínicas da doença (p. ex., meningite, disfunções renal e hepática, hemorragia). O organismo pode ser encontrado no sangue e no LCR no início da doença e na urina durante as fases posteriores. A eliminação das leptospiras ocorre quando se desenvolve imunidade humoral. No entanto, algumas manifestações clínicas podem ter origem nas reações imunológicas. Por exemplo, a meningite se desenvolve depois de os organismos terem sido removidos do LCR e complexos imunes serem detectados em lesões renais.

Epidemiologia

A leptospirose tem distribuição mundial. Ocorrem entre 100 e 200 infecções humanas nos Estados Unidos a cada ano, sendo mais da metade relatadas no Havaí. Entretanto, a incidência da doença é significativamente subestimada, porque a maioria das infecções é branda e diagnosticada incorretamente como "síndrome viral" ou meningite viral asséptica. Em virtude de muitos estados falharem no relato de casos para o serviço público de saúde, a notificação obrigatória foi abolida em 1995; no entanto, a leptospirose foi reintegrada como uma doença de notificação nacional obrigatória em 2013.

As leptospiras infectam dois tipos de hospedeiros: os reservatórios e os incidentais. Infecções endêmicas crônicas são estabelecidas em hospedeiros reservatórios, que funcionam como reservatórios permanentes para a manutenção da bactéria. Diferentes espécies e sorovares de leptospiras estão associados a reservatórios específicos (importantes para investigações epidemiológicas). Os reservatórios mais comuns são roedores e outros mamíferos pequenos. As leptospiras usualmente causam infecções assintomáticas no hospedeiro reservatório, no qual os espiroquetas colonizam os túbulos renais e são eliminados em grande quantidade pela urina. Córregos, rios, águas paradas e solo úmido podem ser contaminados pela urina de animais infectados com bactérias que sobrevivem por até 6 semanas nesses locais. Água contaminada ou exposição direta a animais infectados podem ser fonte de infecção em hospedeiros acidentais (p. ex., cães, animais de fazenda, roedores e seres humanos). A maioria das infecções humanas acontece pela exposição à água contaminada em momentos de lazer (p. ex., lagos), ou por exposição ocupacional a animais infectados (fazendeiros, trabalhadores de abatedouros, veterinários). A maioria das infecções humanas ocorre durante os meses quentes, quando a frequência de recreação em água é maior. Não foi documentada transmissão pessoa a pessoa. Por definição, o estado de portador crônico não ocorre em hospedeiros acidentais.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 32-4)

A maioria das infecções humanas por leptospiras é clinicamente inaparente, sendo detectada apenas pela demonstração de anticorpos específicos. A infecção é adquirida por abrasões cutâneas ou pela conjuntiva. As infecções sintomáticas se desenvolvem após período de incubação de 1 a 2 semanas e em duas fases. A fase inicial é semelhante a uma gripe, com febre, mialgia (dor muscular), calafrios, cefaleia, vômitos ou diarreia. Durante essa fase, o paciente é bacterêmico com leptospiras, e frequentemente os organismos podem ser isolados do LCR, embora sintomas meníngeos não estejam presentes. Os sintomas podem desaparecer após 1 semana ou o paciente pode progredir para a segunda fase, que se caracteriza por doença mais grave com início súbito de cefaleia, mialgia, calafrios, dor abdominal e extravasamento conjuntival (i.e., congestão ou vermelhidão do olho). A doença grave pode progredir para colapso vascular, trombocitopenia, hemorragia e disfunções hepática e renal.



Caso Clínico 32-4 Leptospirose em Participantes de Triatlo

Há uma série de relatos de leptospirose em atletas participantes de eventos desportivos aquáticos. Em 1998, autoridades de saúde pública relataram leptospirose em participantes de triatlo em Illinois e Wisconsin (*MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 47:673-676, 1998). Um total de 866 atletas participaram do evento em Illinois, em 21 de junho de 1998, e 648 atletas participaram do evento em Wisconsin em 5 de julho do mesmo ano. A definição de caso de leptospirose utilizada para essa investigação foi aparecimento de febre, seguida de pelo menos dois dos seguintes sinais ou sintomas: calafrios, cefaleia, mialgia, diarreia, dor ou vermelhidão ocular. Nove por cento dos participantes se enquadravam nessa definição; dois terços procuraram atendimento médico, incluindo um terço que foi hospitalizado. A leptospirose foi confirmada por testes sorológicos em parte desses pacientes. Esse surto ilustra o perigo potencial de nadar em águas contaminadas, a apresentação de leptospirose em uma população previamente saudável, e a ocorrência de doença grave.

A leptospirose limitada ao sistema nervoso central pode ser confundida com **meningite asséptica** viral, porque o curso da doença geralmente não é complicado e tem taxa de mortalidade muito baixa. A cultura do LCR geralmente é negativa nesse estádio. Em contraste, a forma ictérica de doença generalizada (≈10% de todas as infecções sintomáticas) é mais grave e apresenta taxa de mortalidade de 10 a 15%. Embora o envolvimento hepático com icterícia (doença ictérica ou **síndrome de Weil**) seja notável em pacientes com leptospirose grave, não há necrose hepática, e os sobreviventes não sofrem danos hepáticos permanentes. Do mesmo modo, a maioria dos pacientes recupera completamente a função renal. Pode ocorrer leptospirose congênita, caracterizada pelo aparecimento súbito de cefaleia, febre, mialgia e erupção cutânea difusa.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Por serem delgadas, as leptospiras estão no limite de resolução do microscópio óptico, e não podem ser observadas por microscopia óptica convencional. As colorações de Gram ou de prata não são confiáveis para sua detecção. A microscopia de campo escuro também é relativamente insensível, podendo acarretar resultados inespecíficos.

Cultura

As leptospiras podem ser cultivadas em meios especialmente formulados (p. ex., Fletcher, EMJH [Ellinghausen-McCullough-Jonhson-Harris], Albumina-tween 80). Crescem lentamente (tempo de geração de 6 a 16 horas), requerem incubação a 28 a 30°C por até 4 meses, embora a maioria das culturas seja positiva dentro de 2 semanas. Em concordância com as duas fases da doença, as leptospiras estão presentes no sangue ou no LCR durante os primeiros 10 dias de infecção e na urina após a primeira semana por até 3 meses. Como as concentrações dos organismos no sangue, no LCR e na urina podem ser baixas, em casos suspeitos de leptospirose devem ser coletadas várias amostras. Além disso, inibidores presentes no sangue e na urina podem atrasar ou impedir a recuperação das leptospiras. A urina deve ser tratada para neutralizar o

pH e concentrada por centrifugação. Algumas gotas do sedimento são inoculadas no meio de cultura. O crescimento da bactéria é detectado por microscopia de campo escuro.

Testes com Ácidos Nucleicos

O trabalho preliminar de detecção de leptospiras com sondas de ácidos nucleicos tem tido sucesso limitado. Técnicas que utilizam a amplificação de ácidos nucleicos (p. ex., PCR) são mais sensíveis que a cultura. Infelizmente, não são amplamente disponíveis no momento, particularmente em países de recursos limitados onde a doença é comum.

Detecção de Anticorpos

Em razão da necessidade de meios específicos e período de incubação prolongado, a maioria dos laboratórios não realiza cultura de leptospiras, dependendo, portanto, de técnicas sorológicas. O método de referência para todos os testes sorológicos é o teste de aglutinação microscópica (MAT, do inglês, microscopic agglutination test). Esse teste mede a capacidade do soro em aglutinar leptospiras vivas. Como o teste é dirigido contra sorotipos específicos, é necessário utilizar uma mistura de antígenos de leptospiras. Nesse teste, diluições seriadas do soro do paciente são misturadas com os antígenos e examinadas microscopicamente para aglutinação. Aglutininas aparecem no sangue de pacientes não tratados após 5 a 7 dias de infecção, embora essa resposta possa ser atrasada por vários meses. Pacientes infectados apresentam título de pelo menos 200 (i.e., aglutininas são detectadas em uma diluição do soro de 1:200), podendo alcançar diluições de 25.000 ou maiores. Os pacientes tratados com antibióticos podem ter resposta imune diminuída ou títulos não diagnósticos. Anticorpos aglutinantes são detectáveis por muitos anos após a doença aguda; assim, sua presença pode representar tanto uma resposta atenuada em pacientes com doença aguda tratada quanto anticorpos residuais em pessoa com leptospirose não diagnosticada ocorrida há mais tempo. Como o teste de aglutinação microscópica utiliza organismos vivos, é realizado apenas em laboratórios de referência. Testes alternativos, como hemaglutinação indireta, aglutinação em lâmina e ELISA, são menos sensíveis e específicos. Esses testes podem ser realizados para rastrear a doença, mas reações positivas devem ser confirmadas por MAT ou por cultura. Ocorrem reações sorológicas cruzadas em infecções por outros espiroquetas (i.e., sífilis, febre recorrente, doença de Lyme) e legionelose.

Tratamento, Prevenção e Controle

A leptospirose normalmente não é fatal, sobretudo na ausência de doença ictérica. Os pacientes devem ser tratados com **penicilina** ou **doxiciclina** administrada por via intravenosa. A administração de doxiciclina, mas não de penicilina, pode prevenir a doença em pessoas expostas a animais infectados ou água contaminada com urina. É difícil erradicar a leptospirose, porque a doença é disseminada em animais domésticos e silvestres. No entanto, a vacinação de gado para consumo humano e animais de estimação tem-se revelado eficaz na redução da incidência da doença nessas populações e, portanto, da exposição humana subsequente. O controle de roedores também é eficaz na eliminação de leptospirose em comunidades.

Referências Bibliográficas

Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I, et al. Diagnosis of Lyme borreliosis. Clin Microbiol Rev. 2005;18:484-509.

Antal GM, Lukehart SA, Meheus AZ. The endemic treponematoses. Microbes Infect. 2002;4:83–94.

Centers for Disease Control and Prevention Sexually transmitted disease surveillance 2012. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2013.

Feder Jr HM, Johnson BJ, O'Connell S, et al. Review article: a critical appraisal of "chronic Lyme disease". N Engl J Med. 2007;357:1422–1430.

Gayet-Ageron A, Lautenschlager S, Ninet B, et al. Sensitivity, specificity and likelihood rations of PCR in the diagnosis of syphilis: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect*. 2013;89:251–256.

Jafari Y, Peeling RW, Shivkumar S, et al. Are *Treponema pallidum*—specific rapid and point-of-care tests for syphilis accurate enough for screening in resource limited settings? Evidence from a meta-analysis. *PLoS ONE*. 2013;8:e54695.

LaFond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. Clin Microbiol Rev. 2006;19:29-49.

Levitt PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev. 2001;14:296-326.

Mitja O, Asiedu K, Mabey D. Yaws. Lancet. 2013;381:763-773.

Rothschild BM. History of syphilis. Clin Infect Dis. 2005;40:1454–1463.

Shapiro E. Lyme disease. N Engl J Med. 2014;370:1724–1731.

Steere AC, McHugh G, Damle N, et al. Prospective study of serologic tests for Lyme disease. Clin Infect Dis. 2008;47:188–195.

Toner B. Current controversies in the management of adult syphilis. Clin Infect Dis. 2007;44:S130-S146.

Wormser GP. Early Lyme disease. $N\ Engl\ J\ Med.\ 2006;354:2794-2801.$

Wormser GP, Dattwyler RJ, Shapiro ED, et al. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2006;43:1089–1134.

CAPÍTULO 33

Mycoplasma e Ureaplasma

Uma menina de 13 anos foi admitida no hospital com história de 5 dias de febre e tosse não produtiva. Ela havia recebido 3 dias de tratamento com cefalosporina, fora do hospital, sem alívio dos sintomas. Na admissão, o exame do tórax revelou crepitação com estertores bilaterais, macicez à percussão e uma radiografia de tórax mostrou infiltrado no lobo inferior direito. As colorações bacterianas e culturas foram negativas, mas um teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) para Mycoplasma pneumoniae foi positiva.

- 1. O que é único na estrutura celular dos micoplasmas? Como isso afeta a suscetibilidade aos antibióticos?
- 2. Quais infecções são atribuídas a Mycoplasma pneumoniae? M. genitalium? M. hominis?
- 3. Qual o teste mais sensível para diagnóstico de infecção por Mycoplasma pneumoniae?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Mycoplasma pneumoniae

Palavras-gatilho

Nenhuma parede celular, pessoa a pessoa, traqueobronquite

Biologia e Virulência

- Menor bactéria de vida livre; passa através de filtros com poros de 0,45 μm
- Ausência de parede celular e membrana celular contendo esteróis são aspectos únicos entre bactérias
- Taxa lenta de crescimento (tempo de geração de 6 horas); aeróbio estrito
- A adesina P1 se liga à base dos cílios, acarretando perda das células epiteliais ciliadas
- Estimula a migração de células inflamatórias e liberação de citocinas

Epidemiologia

- Doença mundial, sem incidência sazonal (em contraste com as doenças causadas pela maioria dos patógenos respiratórios)
- Infecta principalmente crianças entre 5 e 15 anos, mas todas as populações são suscetíveis à doença
- Transmitida por inalação de gotículas aerossolizadas

Doenças

- Patógeno humano estrito
- Consulte a Tabela 33-1 para informações sobre a doença

Diagnóstico

• Consulte a Tabela 33-2 para a doença

Tratamento, Prevenção e Controle

- Medicamentos de escolha são eritromicina, doxiciclina ou novas fluoroquinolonas
- A imunidade não é duradoura e vacinas têm se mostrado ineficazes

A ordem Mycoplasmatales é subdividida em quatro gêneros: *Eperythrozoon, Haemobartonella, Mycoplasma* e *Ureaplasma*. Os gêneros clinicamente significativos são *Mycoplasma* (124 espécies) e *Ureaplasma* (sete espécies), e a espécie mais importante é *Mycoplasma pneumoniae* (também chamado de **agente de Eaton**, em homenagem ao pesquisador que o isolou primeiramente). *M. pneumoniae* causa doenças do trato respiratório, como traqueobronquite e pneumonia. Outros patógenos comumente isolados incluem *M. genitalium*, *M. hominis* e *Ureaplasma urealyticum* (Tabela 33-1).



Mycoplasmataceae Clinicamente Importantes

Organismo	Local	Doença Humana	
Mycoplasma pneumoniae	Trato respiratório	Traqueobronquite, faringite, pneumonia, complicações secundárias (neurológicas, pericardite, anemia hemolítica, artrite, lesões mucocutâneas)	
Mycoplasma genitalium	Trato geniturinário	Uretrite não gonocócica (UNG), doença inflamatória pélvica	
Mycoplasma hominis	Trato respiratório, trato geniturinário	Pielonefrite, febre pós-parto, infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos	
Ureaplasma urealyticum	Trato respiratório, trato geniturinário	UNG, pielonefrite, aborto espontâneo, parto prematuro	

Fisiologia e Estrutura

Mycoplasma e Ureaplasma são as menores bactérias de vida livre. São únicos entre as bactérias, porque não têm parede celular e sua membrana plasmática contém esteróis. Outras bactérias deficientes em parede celular (chamadas formas L) não têm esteróis em sua membrana e podem formar parede celular em condições adequadas de crescimento. A ausência da parede celular torna os micoplasmas resistentes a penicilinas, cefalosporinas, vancomicina e outros antibióticos que interferem na síntese da parede celular.

Micoplasmas têm aspecto pleomórfico, variando de formas cocoides com 0,2 a 0,3 μm a bacilos de 0,1 a 0,2 μm de largura e 1 a 2 μm de comprimento. Muitos podem atravessar filtros de 0,45 μm usados para retirar bactérias de soluções, razão pela qual os micoplasmas foram originalmente considerados vírus. Entretanto, os organismos se dividem por fissão binária (típica de todas as bactérias), crescem em meios artificiais livres de células, e contêm tanto ácido ribonucleico (RNA) como ácido desoxirribonucleico (DNA). Micoplasmas são anaeróbios facultativos (exceto *M. pneumoniae*, que é **aeróbio estrito**) e requerem esteróis exógenos que são fornecidos por soro animal adicionado ao meio de cultura. Os micoplasmas **crescem lentamente**, com tempo de geração de 1 a 16 horas, e a maioria forma colônias pequenas que são difíceis de detectar sem incubação prolongada.

Patogênese e Imunidade

M. pneumoniae é um patógeno extracelular que adere ao epitélio respiratório por uma estrutura especializada de adesão que se forma em uma extremidade da célula. A estrutura consiste em um complexo de proteínas de adesão, sendo **adesina P1** a mais importante. As estruturas de adesão interagem especificamente com receptores glicoproteicos sializados que existem na base dos cílios das células epiteliais (e na superfície de eritrócitos). Depois, ocorre a ciliostase seguida por destruição, primeiramente dos cílios, e, em seguida, das células epiteliais ciliadas. A perda dessas células interfere na limpeza normal das vias respiratórias superiores e permite às bactérias se espalharem para o trato respiratório inferior. O processo é responsável pela tosse persistente presente em pacientes com a doença sintomática. M. pneumoniae atua como um superantígeno, estimulando células inflamatórias a migrar para o local de infecção e liberar citocinas, inicialmente fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interleucina (IL)-1, e, mais tarde, IL-6. Esse processo contribui tanto para a eliminação das bactérias como para as características da doença.

Várias espécies de *Mycoplasma* são capazes de mudar rapidamente a expressão das lipoproteínas de superfície, o que se acredita ser importante para evadir a resposta imune do hospedeiro e estabelecer infecções crônicas persistentes.

Epidemiologia

M. pneumoniae é um patógeno humano estrito. A doença respiratória (traqueobronquite, pneumonia) causada por *M. pneumoniae* ocorre em todo o mundo o ano inteiro, sem aumento sazonal consistente. Doença epidêmica, acontece a cada 4 a 8 anos. A doença é mais frequente em crianças em idade escolar e adultos jovens (5 a 15 anos), mas todos os grupos etários são suscetíveis.

É estimado que ocorram anualmente nos Estados Unidos 2 milhões de casos de pneumonia provocada por *M. pneumoniae* e 100.000 hospitalizações relacionadas com pneumonia. No entanto, como a doença por *M. pneumoniae* não tem notificação obrigatória e testes diagnósticos confiáveis não estão amplamente disponíveis, a incidência real é desconhecida.

M. pneumoniae coloniza o nariz, a garganta, a traqueia e as vias respiratórias inferiores dos indivíduos infectados, e é disseminada por grandes gotículas respiratórias durante episódios de tosse. A infecção geralmente se propaga entre colegas de classe, membros da família ou outros contatos próximos. O índice de acometimento é mais alto em crianças do que em adultos (média geral ≈60%), presumivelmente porque a maioria dos adultos teve exposição prévia e é parcialmente imune. O período de incubação e o tempo de infectividade são prolongados; assim, a doença pode persistir por meses. M.

pneumoniae não faz parte da mucosa humana normal, porém pode haver indivíduos portadores por períodos prolongados após doença sintomática.

Crianças, particularmente meninas, são colonizadas com *M. hominis*, *M. genitalium* e *Ureaplasma*, sendo *Ureaplasma* o organismo mais frequentemente isolado. Embora a presença desses micoplasmas, em geral, não persista, pequena proporção de crianças pré-púberes permanece colonizada. A incidência de micoplasmas genitais aumenta após a puberdade, o que corresponde à atividade sexual. Aproximadamente 15% dos homens e mulheres sexualmente ativos são colonizados com *M. hominis*, e 45% a 75% são colonizados com *Ureaplasma*. A incidência de portadores adultos sexualmente inativos não é maior do que de crianças pré-púberes.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 33-1)

A exposição a *M. pneumoniae* caracteristicamente resulta em um **portador assintomático**. A apresentação clínica mais comum da infecção por *M. pneumoniae* é a **traqueobronquite**. Febre baixa, mal-estar, cefaleia e tosse seca não produtiva se desenvolvem 2 a 3 semanas após a exposição. **Faringite** aguda também pode estar presente. Os sintomas pioram gradualmente nos dias seguintes e podem persistir por 2 semanas ou mais. As vias brônquicas se tornam infiltradas com linfócitos e plasmócitos. Pneumonia (chamada de **pneumonia atípica** primária) também pode desenvolver-se, e na radiografia de tórax é observada broncopneumonia macular, que é mais expressiva que as observações físicas. Mialgia e sintomas do trato gastrointestinal são incomuns. Complicações secundárias incluem anormalidades neurológicas (p. ex., meningoencefalite, paralisia e mielite), pericardite, anemia hemolítica, artrite e lesões mucocutâneas.



Caso Clínico 33-1 Pneumonia Fatal por M. pneumoniae em um Adulto Jovem

Caxboeck e colaboradores (*Wien Klin Wochenschr* 119:379-384, 2007) descreveram um caso incomum de pneumonia fatal por *M. pneumoniae* em uma mulher previamente saudável de 18 anos. Antes da admissão no hospital, ela havia consultado o médico com queixa de desconforto respiratório, e uma radiografia de tórax foi condizente com pneumonia. Um antibiótico do grupo das fluoroquinolonas foi prescrito, mas houve falha terapêutica. Na admissão hospitalar a paciente apresentava temperatura de 40°C e tosse produtiva. O antibiótico foi mudado para macrolídeo e cefalosporina; entretanto, ela continuou a piorar, com progressão dos infiltrados pulmonares, desenvolvimento de efusões pleurais bilaterais e evidências de insuficiência hepática. Apesar de terapia antibiótica agressiva e suporte respiratório, a doença progrediu para pneumonia hemorrágica com falência de múltiplos órgãos, com óbito no 35ºdia de internação hospitalar. O diagnóstico de infecção por *M. pneumoniae* baseou-se em sorologia positiva e ausência de outros patógenos respiratórios à microscopia, à cultura e ao teste de antígenos. Embora um diagnóstico feito por cultura ou PCR tivesse sido mais conclusivo, o caso ilustra a suscetibilidade de adultos a infecções por *Mycoplasma* e a ocorrência incomum, mas bem documentada, de complicações em pacientes suscetíveis. Também deve ser observado que essa paciente muito provavelmente tinha um defeito imunológico não diagnosticado que aumentou sua suscetibilidade a esse patógeno.

Como o trato geniturinário é colonizado por outras espécies de *Mycoplasma* e *Ureaplasma*, é difícil determinar o papel desses organismos na doença de um paciente. Entretanto, geralmente aceita-se que *M. genitalium* pode causar uretrite não gonocócica (UNG) e doença inflamatória pélvica; *U. urealyticum* pode causar UNG, pielonefrite e aborto espontâneo ou parto prematuro; e *M. hominis* pode ocasionar pielonefrite, febre pós-parto e infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos. As evidências que implicam os organismos nessas doenças têm por base: isolamento das bactérias a partir de espécimes de pacientes infectados; resposta sorológica ao organismo; melhora clínica após tratamento com antibióticos específicos; demonstração da doença em modelos animais; ou uma combinação desses achados.

Diagnóstico Laboratorial (Tabela 33-2)

A microscopia não tem valor diagnóstico porque os micoplasmas coram mal com a coloração de Gram. Da mesma forma, os testes de antígeno têm pouca sensibilidade e especificidade e não são recomendados. Os testes de diagnóstico mais sensíveis são os de amplificação por PCR para alvos genéticos específicos de espécie, embora a especificidade para micoplasmas patogênicas não tenha sido estabelecida. O *M. pneumoniae* pode ser isolado em cultura a partir de lavados de orofaringe, lavagens brônquicas, e catarro expectorado; no entanto, os organismos crescem lentamente (tempo de geração, 6 horas) e requerem meios especiais suplementados com soro (fornece esteróis), extrato de levedura (para os precursores de ácidos nucleicos), glicose, um indicador de pH e penicilina (para inibir outras bactérias). Um resultado positivo da cultura é evidência definitiva da doença, mas é relativamente **insensível**. *M. hominis* é um anaeróbio facultativo que cresce em 1 a 4 semanas. As colônias são grandes, com aparência típica de ovo frito e a inibição do crescimento com antissoro específico é usada para diferenciá-lo de outros micoplasmas genitais. *Ureaplasma* requer ureia para crescimento, mas é inibido pela grande alcalinidade resultante do metabolismo da ureia. Assim, o meio deve ser suplementado com ureia e fortemente tamponado. Mesmo obedecendo a todas essas etapas, os ureaplasmas morrem rapidamente após o isolamento inicial. Existem testes sorológicos para *M. pneumoniae*. O padrão de referência sorológica tradicional é a detecção de anticorpos contra *M. pneumoniae* por fixação do complemento. Todavia, o teste tem baixa sensibilidade e os anticorpos contra o

antígeno glicolipídico-alvo também são dirigidos para outras espécies de *Mycoplasma* e tecidos do hospedeiro. Vários testes imunoenzimáticos para a detecção de imunoglobulina (Ig)M e de anticorpos IgG estão disponíveis. Em geral, esses testes são mais sensíveis que a fixação de complemento e a cultura. A desvantagem é que, para demonstrar elevação nos níveis de anticorpos, deve ser coletado soro logo no início do curso da doença e novamente após 3 a 4 semanas.



Tabela 33-2

Testes Diagnósticos para Infecções por Mycoplasma pneumoniae

Teste	Avaliação			
Microscopia	Esse teste não é útil porque os organismos não têm parede celular e não se coram com os reagentes convencionais			
Cultura	Teste lento (2 a 6 semanas antes de diagnóstico positivo) e insensível; não disponível na maioria dos laboratórios			
Diagnóstico molecular	Testes de amplificação baseados em PCR com excelente sensibilidade; especificidade não bem definida			
Sorologia				
Fixação do complemento	Os títulos dos anticorpos contra antígenos lipídicos têm pico em 4 semanas e persistem por 6 a 12 meses; sensibilidade e especificidade baixas; raramente utilizado atualmente			
Imunoensaios enzimáticos	Vários testes disponíveis com sensibilidade e especificidade variáveis; testes contra a adesina P1 podem ser mais específicos			
Crioaglutininas	Sensibilidade e especificidade baixas, com reações cruzadas com outros antígenos respiratórios (p.ex., vírus Epstein Barr, citomegalovírus, adenovírus); teste comumente usado, mas não recomendado			

Historicamente, também foi possível medir as reações inespecíficas para os lipídios da membrana externa de *M. pneumoniae*. A mais popular dessas reações é a produção de **crioaglutininas** (anticorpos IgM que se ligam aos antígenos na superfície de eritrócitos humanos a 4°C). Esse teste não deve ser realizado porque é insensível e inespecífico.

Tratamento, Prevenção e Controle

Eritromicina, tetraciclinas (principalmente doxiciclina) e fluoroquinolonas são igualmente eficazes no tratamento de infecções por *M. pneumoniae*, embora tetraciclinas e fluoroquinolonas sejam reservadas para adultos. Tetraciclinas apresentam a vantagem de também serem ativas contra a maioria dos outros micoplasmas e clamídias, que também são causas comuns de UNG. A eritromicina é usada para tratar as infecções por *Ureaplasma* porque esses organismos são resistentes à tetraciclina. Ao contrário dos outros micoplasmas, *M. hominis* é resistente à eritromicina e ocasionalmente às tetraciclinas. A clindamicina tem sido usada para tratar infecções causadas por cepas resistentes.

A prevenção da doença por *Mycoplasma* é difícil. As infecções por *M. pneumoniae* são disseminadas por contato próximo; assim, teoricamente, o isolamento de pessoas infectadas pode reduzir o risco de infecção. O isolamento é pouco prático, pois os pacientes são tipicamente infecciosos por período prolongado, mesmo durante o tratamento com antibióticos apropriados. Vacinas com organismos inativados ou organismos vivos atenuados também têm se mostrado decepcionantes. Tem-se observado baixa imunidade protetora conferida pela infecção. Infecções por *M. hominis*, *M. genitalium* e *Ureaplasma* são transmitidas por contato sexual. Consequentemente, essas doenças podem ser prevenidas evitando-se a atividade sexual sem o uso de proteção adequada.

Referências Bibliográficas

Capoccia R, Greub G, Baud D. *Ureaplasma urealyticum, Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcome. *Curr Opin Infect Dis.* 2013;26:231–240.

Citti C, Nouvel L, Baranowski E. Phase and antigenic variation in mycoplasmas. Future Microbiol. 2010;5:1073–1085.

Daley G, Russell D, Tabrizi S, et al. Mycoplasma genitalium: a review. Int J STD AIDS. 2014;25:475-487.

Loens K, Ursi D, Goossens H, et al. Molecular diagnosis of Mycoplasma pneumoniae respiratory tract infections. J Clin Microbiol. 2003;41:4915–4923.

McGowin C, Anderson-Smits C. *Mycoplasma genitalium*: an emerging cause of sexually transmitted disease in women. *PLoS Pathog.* 2011;7:e1001324.

Meyer P, van Rossum A, Vink C. *Mycoplasma pneumoniae* in children: carriage, pathogenesis, and antibiotic resistance. *Curr Opin Infect Dis*. 2014;27:220–227.

Waites K, Katz B, Schelonka R. Mycoplasmas and Ureaplasmas as neonatal pathogens. Clin Microbiol Rev. 2005;18:757-789.

Waites K, Talkington D. Mycoplasma pneumoniae and its role as a human pathogen. Clin Microbiol Rev. 2004;17:697–728.

Rickettsia, Ehrlichia e Bactérias Relacionadas

Um homem de 24 anos, vivendo na Carolina do Norte, recorreu ao departamento de emergência local por febre, artralgias, mialgia e mal-estar. Ele estava bem até 4 dias antes da admissão, quando desenvolveu febre de 40°C, calafrios, cefaleia intensa e mialgia. O exame físico revelou um homem gravemente doente com temperatura de 39,7°C, pulso de 110 batimentos/min, frequência respiratória de 28 respirações/min, pressão arterial de 100/60 mmHg e erupção cutânea nas extremidades, que incluía regiões palmar e plantar. O paciente recorda-se de ter tido inúmeras picadas de carrapato 10 dias antes do início dos sintomas. A febre maculosa das Montanhas Rochosas foi considerada no diagnóstico e os testes sorológicos para espécies *Rickettsia* confirmaram esse diagnóstic o.

- 1. Que antibióticos podem ser usados para tratar essa infecção? Quais os antibióticos que não devem ser usados?
- 2. Quais as riquétsias associadas aos seguintes vetores: carrapatos, piolhos, ácaros e pulgas?
- 3. Por que o uso da coloração Gram é inadequado para o diagnóstico das infecções por Rickettsia?
- 4. Ehrlichia e Anaplasma têm sido historicamente associadas a Rickettsia. Compare a doença clínica causada por Ehrlichia chaffeensis e Anaplasma phagocytophilum.
- 5. Quais as doenças clínicas causadas por Coxiella burnetii?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis emwww.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Rickettsia rickettsii

Palavras-gatilho

Bactérias intracelulares, febre maculosa das Montanhas Rochosas, vasculite, carrapato, teste de microimunofluorescência

Biologia e Virulência

- Pequenas bactérias intracelulares
- Coram-se mal pela coloração de Gram; coram-se melhor com as colorações de Giemsa ou Gimenez
- Replicação no citoplasma e no núcleo de células endoteliais, com consequente vasculite
- Crescimento intracelular protege as bactérias da eliminação imunológica

Epidemiologia

- R. rickettsii é o patógeno riquetsial mais comum nos Estados Unidos
- Carrapatos duros (p. ex., carrapato do cão, carrapato da floresta) são os principais reservatórios e vetores
- A transmissão requer contato prolongado
- Distribuição no hemisfério ocidental; nos Estados Unidos, as infecções, em sua maioria, são relatadas em cinco estados: Carolina do Norte, Oklahoma, Arkansas, Tennessee e Missouri
- A doença é mais frequente de abril a setembro

Doenças

• Febre maculosa das Montanhas Rochosas, caracterizada por febre alta, cefaleias intensas, mialgia e erupção cutânea; as complicações são comuns em pacientes não tratados ou quando o diagnóstico é adiado

Diagnóstico

• A sorologia (p. ex., teste da microimunofluorescência) é usada mais comumente para diagnóstico

Tratamento, Prevenção e Controle

- Doxiciclina é o medicamento de escolha
- As pessoas devem evitar áreas infestadas de carrapatos, usar roupas de proteção e inseticidas eficazes
- As pessoas devem remover imediatamente os carrapatos aderidos

• Atualmente, não há vacina disponível

Rickettsia prowazekii

Palavras-gatilho

Bactérias intracelulares, tifo transmitido por piolho, doença de Brill-Zinsser, vasculite, reservatório humano, teste de microimunofluorescência

Biologia e Virulência

- Pequenas bactérias intracelulares
- Coram-se mal pela coloração de Gram; coram-se melhor com as colorações de Giemsa ou de Gimenez
- Replicam-se no citoplasma de células endoteliais, com vasculite resultante
- Crescimento intracelular protege as bactérias da eliminação imunológica

Epidemiologia

- Os seres humanos são os principais reservatórios, com transmissão de pessoa a pessoa pelo piolho vetor
- Acredita-se que a doença esporádica seja disseminada de esquilos para humanos pelas pulgas dos esquilos
- A doença recorrente pode desenvolver-se anos após a infecção inicial
- As pessoas sob maior risco são aquelas que vivem em aglomerações e com baixas condições sanitárias
- A doença é mundial, com a maioria das infecções sendo encontrada nas Américas Central e do Sul e na África
- A doença esporádica é observada no leste dos Estados Unidos

Doenças

- Tifo epidêmico (tifo transmitido por piolhos) caracterizado por febre alta, cefaleia intensa e mialgia
- Tifo recrudescente (doença de Brill-Zinsser) é uma forma mais leve da doença

Diagnóstico

• O teste de microimunofluorescência é o teste de escolha

Tratamento, Prevenção e Controle

- Doxiciclina é o medicamento de escolha
- Controlada mediante melhoria nas condições de vida e redução da população de piolhos, com uso de inseticidas
- A vacina inativada encontra-se disponível para populações de alto risco

Ehrlichia e Anaplasma

Palavras-gatilho

Bactérias intracelulares, doença monocítica e granulocítica, carrapatos

Biologia e Virulência

- Bactérias pequenas, intracelulares, que se coram fracamente com coloração de Gram; coram melhor com coloração Giemsa ou Gimenez
- Replicação nos fagossomos das células infectadas
- O crescimento intracelular protege as bactérias da eliminação imunológica
- Capazes de impedir a fusão do fagossomo com o lisossomo de monócitos ou granulócitos
- Inicia a resposta inflamatória que contribui para a patologia

Epidemiologia

- Dependendo da espécie de *Ehrlichia*, os reservatórios importantes são veado de cauda branca, camundongo de patas brancas, esquilos, ratos silvestres e caninos
- Os carrapatos são vetores importantes, mas a transmissão transovariana é ineficaz
- Nos Estados Unidos, a doença é mais comum nos estados do sudeste, do centro-Atlântico, do centro-oeste e do centro-sul
- As pessoas em maior risco são aquelas expostas a carrapatos nas áreas endêmicas
- A doença é mais frequente de abril a outubro

Doencas

• As doenças são a erliquiose monocítica humana e a anaplasmose humana (anteriormente chamada de *erliquiose granulocítica humana*)

Diagnóstico

- A microscopia tem valor limitado
- Sorologia e testes de amplificação de ácidos nucleicos são os métodos de escolha

Tratamento, Prevenção e Controle

• Doxiciclina é o medicamento de escolha; rifampicina é uma alternativa possível

- A prevenção envolve evitar áreas infestadas por carrapatos, uso de vestuário de proteção e de repelentes de insetos, bem como remoção imediata dos carrapatos aderidos
- Não estão disponíveis vacinas

Coxiella burnetii

Palavras-gatilho

Bactérias intracelulares, doença gripal aguda, doença crônica de endocardite subaguda, exposição por inalação, antígenos de fases I e II

Biologia e Virulência

- Bactérias pequenas intracelulares que coram fracamente com coloração de Gram; coram melhor com as colorações de Giemsa ou de Gimenez
- Replicação nos fagossomos de células infectadas
- Existe em duas formas: variante de célula pequena infecciosa, extremamente estável a fatores ambientais; a variante de célula grande é a forma metabolicamente ativa
- A transição de fase ocorre durante a infecção: fase I com lipopolissacarídeo (LPS) intacto, fase II com LPS truncado (perda dos açúcares do antígeno O)
- O crescimento intracelular protege as bactérias da eliminação imunológica
- Capaz de se replicar no ambiente ácido dos fagossomos
- Forma extracelular extremamente estável; pode sobreviver por longo tempo na natureza

Epidemiologia

- Muitos reservatórios, incluindo mamíferos, aves e carrapatos
- A maioria das infecções humanas está associada ao contato com gado infectado, ovelhas, cabras, cães e gatos
- A maioria das doenças é adquirida por inalação; possível doença por consumo de leite contaminado; os carrapatos não são vetores importantes para doença humana
- Distribuição mundial
- Nenhuma incidência sazonal

Doencas

- A maioria das infecções é assintomática; a apresentação aguda mais comum é de sintomas não específicos, semelhantes aos da síndrome gripal; menos de 5% desenvolvem doença aguda significativa (pneumonia, hepatite, pericardite, febre)
- A endocardite é a forma mais comum de doença crônica

Diagnóstico

• Detecção de anticorpos para antígenos de fases I e II é o teste de escolha

Tratamento, Prevenção e Controle

- Doxiciclina é o medicamento de escolha para infecções agudas; hidroxicloroquina combinada com doxiciclina são usadas para tratamento de infecções crônicas
- Vacinas de antígeno de fase I são protetoras e seguras se administradas em dose única, antes de o animal ou humano ser exposto a *Coxiella*; não estão disponíveis nos Estados Unidos para animais nem humanos

Todas as bactérias discutidas neste capítulo foram, em determinado período, classificadas na família Rickettsiaceae, com base na observação de que elas eram bacilos Gram-negativos, intracelulares e aeróbios obrigatórios. A análise das suas sequências de ácido desoxirribonucleico (DNA) revelou que essa classificação não era válida, então foram criadas três famílias distintas: Rickettsiaceae com dois gêneros, *Rickettsia* e *Orientia*; Anaplasmataceae com dois gêneros, *Ehrlichia* e *Anaplasma*; e Coxiellaceae com **Coxiella** (Tabela 34-1).



Rickettsia, Orientia, Ehrlichia, Anaplasma e Coxiella

	Origem Histórica		
Rickettsia rickettsii	Nomeada segundo de Howard Ricketts, que associou o carrapato da floresta como o vetor da febre maculosa das Montanhas Rochosas		
R. akari	akari, ácaro; o vetor da riquetsiose vesicular		
R. prowazekii	Nomeada segundo Stanislav Von Prowazek, um dos primeiros pesquisadores do tifo, que foi vítima dessa doença		
R. typhi	typhi, tifo ou febre		
Orientia tsutsugamushi	Orientia, Oriente; tsutsugamushi, "doença do ácaro", nome popular dessa doença no Oriente		
Ehrlichia	Nomeada segundo o microbiologista alemão Paul Ehrlich		
E. chaffeensis	Isolada pela primeira vez em um reservista do exército em Fort Chaffee, Arkansas		
E. ewingii	Nomeada segundo o microbiologista americano William Ewing		
Anaplasma	an, sem; plasma, qualquer coisa com forma (uma coisa sem forma, referindo-se às inclusões citoplasmáticas)		
A. phagocytophilum	phago, comer; kytos, vaso ou envoltório; philein, afinidade (encontrado em fagócitos)		
Coxiella burnetii	Nomeada segundo Herald Cox e F.M. Burnet, que isolaram a bactéria de carrapatos em Montana e de pacientes na Austrália, respectivamente		

Rickettsiaceae

A família Rickettsiaceae consiste em dois gêneros, *Rickettsia* e *Orientia*, e o gênero *Rickettsia* está subdividido em **grupo da febre maculosa** e **grupo do tifo.** Muitas espécies de *Rickettsia* do grupo da febre maculosa estão associadas a doenças humanas; no entanto, apenas a *Rickettsia rickettsii* (febre maculosa das Montanhas Rochosas) e *Rickettsia akari* (riquetsiose vesicular) serão discutidas neste capítulo. Duas espécies de *Rickettsia* fazem parte do grupo do tifo: *R. prowazekii* e *R. typhi*. O gênero *Orientia* tem apenas uma espécie, *Orientia tsutsugamushi*, o organismo responsável pelo tifo rural.

Fisiologia e Estrutura

Os organismos da família Rickettsiaceae são pequenos (0,3 × 1-2 µm), estruturalmente semelhantes a bacilos Gramnegativos e crescem apenas no citoplasma de células eucarióticas. As estruturas da parede celular de *Rickettsia* são típicas de bacilos Gram-negativos, com uma camada de peptidoglicano e lipopolissacarídeos (LPS); no entanto, a camada de peptidoglicano é mínima (cora fracamente com coloração Gram) e o LPS tem apenas uma fraca atividade de endotoxina. *Orientia* não tem a camada de peptidoglicano nem LPS. Ambos os grupos de organismos são mais bem visualizados com as colorações de Giemsa ou Gimenez (Fig. 34-1).

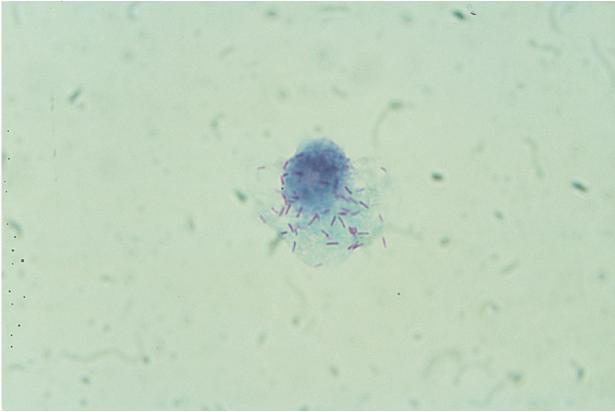


FIGURA 34-1 Coloração de Gimenez de células de cultura de tecidos infectadas com *Rickettsia* do grupo da febre maculosa. (De Cohen J, Powderly WG: *Infectious diseases*, ed 2, St Louis, 2004, Mosby.)

Rickettsia e Orientia são parasitas estritamente intracelulares, encontrados livres no citoplasma de células infectadas. As bactérias entram nas células eucarióticas pela adesão aos receptores de superfície da célula hospedeira e pela estimulação da fagocitose. Após o engolfamento, Rickettsia e Orientia degradam a membrana do fagossomo pela produção de uma fosfolipase e devem ser liberadas no citoplasma, caso contrário não sobreviverão. A multiplicação na célula hospedeira por divisão binária é lenta (tempo de geração de 9 a 12 horas). O grupo da febre maculosa da Rickettsia e Orientia cresce no citoplasma e no núcleo das células infectadas, e é continuamente liberado a partir das células através de longas projeções citoplasmáticas. Em contrapartida, o grupo do tifo se acumula no citoplasma da célula até que a membrana celular sofra lise, sinalizando a morte celular e a liberação das bactérias. Acredita-se que a diferença fundamental seja causada pela motilidade intracelular — o grupo da febre maculosa é capaz de polimerizar a actina da célula hospedeira, enquanto o grupo do tifo não tem o gene necessário. Uma vez liberadas da célula hospedeira, as bactérias são instáveis e morrem rapidamente.

O genoma de *R. prowazekii* foi sequenciado, fornecendo informações sobre a natureza parasitária dessas bactérias. As bactérias dependem da célula hospedeira para muitas funções: metabolismo de carboidratos, biossíntese de lipídios, síntese de nucleotídeos e síntese de aminoácidos. Adicionalmente, as bactérias são capazes de produzir trifosfato de adenosina (ATP) por meio do ciclo do ácido tricarboxílico, ou podem atuar como parasitas de energia, usando o ATP disponível da célula hospedeira.

Patogênese e Imunidade

Um bom modelo para infecções por riquétsias é *R. rickettsii*. Esse agente é responsável pela **febre maculosa das Montanhas Rochosas** e é a riquétsia que mais comumente causa doença humana nos Estados Unidos. Não há evidência de que *R. rickettsii* produza toxinas ou que a resposta imune do hospedeiro seja responsável pelas manifestações patológicas da febre maculosa das Montanhas Rochosas. A **proteína A de membrana externa (OmpA)**, expressa na superfície de *R. rickettsii*, é responsável pela capacidade da bactéria aderir às células endoteliais. Depois da penetração na célula, as bactérias são liberadas do fagossomo, multiplicam-se livremente no citoplasma e no núcleo e se movem para as células adjacentes. As manifestações clínicas primárias parecem resultar da replicação das bactérias nas célulasendoteliais, com consequentes dano celular e extravasamento nos vasos sanguíneos. Hipovolemia e hipoproteinemia causadas pela perda de plasma para os tecidos podem resultar na redução da perfusão de vários órgãos e falência orgânica. A resposta imune do hospedeiro à infecção é baseada na morte intracelular mediada por citocinas e na eliminação por linfócitos citotóxicos CD8. As respostas de anticorpos às proteínas de membrana externa da riquétsia também podem ser importantes.

Epidemiologia

As espécies patogênicas de *Rickettsia* e *Orientia* são mantidas em reservatórios animais e artrópodes e são transmitidas por vetores artrópodes (p. ex., carrapatos, ácaros, piolhos, pulgas; Tabela 34-2). Os humanos são hospedeiros acidentais. As

riquétsias são mantidas em hospedeiros reservatórios (principalmente roedores) e seus vetores artrópodes (p. ex., carrapatos, ácaros, pulgas). Como ocorre **transmissão transovariana** em artrópodes, eles podem servir tanto de vetor quanto de hospedeiro. A exceção é a *Rickettsia prowazekii*, para a qual o homem é o hospedeiro primário e o piolho do corpo humano é o vetor. A transmissão transovariana não é importante porque as bactérias matam o piolho.



Tabela 34-2

Epidemiologia das Infecções Causadas por Rickettsia e Bactérias Relacionadas

Organismo	Doença	Reservatório	Vetor	Distribuição
Rickettsia rickettsii	Febre maculosa das Montanhas Rochosas	Carrapatos, roedores selvagens	Carrapatos duros (carrapato do cão, carrapato da floresta)	Oeste do Canadá, EUA continental, México, Panamá, Argentina, Brasil, Bolívia, Colômbia, Costa Rica
R. akari	Riquetsiose vesicular	Ácaros (larvas), roedores selvagens	Ácaros	América do Norte (particularmente áreas urbanas do nordeste dos EUA), México, Europa (p. ex., Croácia, Ucrânia, Turquia), Ásia (p. ex., Coreia), África
R. prowazekii	Tifo epidêmico (transmitido por piolho)	Seres humanos	Piolho de humanos	Regiões montanhosas da Áfricas Central e Oriental (Burundi, Ruanda, Etiópia), Américas Central e do Sul, Ásia
	Tifo recrudescente	Seres humanos	Doença recorrente	Mundial
	Tifo esporádico	Esquilos voadores, pulgas e piolhos de esquilo	Possivelmente pulgas de esquilo	EUA
R. typhi	Tifo endêmico (murino)	Gatos, gambás, guaxinins, cangambás, roedores selvagens	Pulga de gato, pulga de rato	Mundial
Orientia tsutsugamushi	Tifo do mato	Ácaros (larvas), roedores selvagens	Ácaros	Japão, Ásia Oriental, norte da Austrália, sudoeste e ocidente do Pacífico
Ehrlichia chaffeensis	Erliquiose monocítica humana	Cervos, cães, raposas, coiotes e lobos	Carrapatos moles (carrapato-estrela solitária)	Américas do Norte e do Sul, Ásia
E. ewingii	Erliquiose granulocítica humana	Cães e cervos	Carrapatos moles (carrapato-estrela solitária)	América do Norte (incomum, Missouri)
Anaplasma phagocytophilum	Anaplasmose granulocítica humana	Pequenos mamíferos (roedores, esquilos, ratos), cervos, ovelhas	Carrapatos moles (carrapato <i>Blacklegged</i> ou de pernas pretas)	América do Norte (parte superior do centro- oeste e nordeste), Europa, Ásia
Coxiella burnetii	Febre Q	Mamíferos, aves, carrapatos	Carrapatos incidentais (maioria das infecções após inalação)	Mundial

EUA, Estados Unidos da América.

A distribuição das doenças por riquétsias é determinada pela distribuição do artrópode hospedeiro/vetor. A maioria das infecções que tem carrapatos como vetores (p. ex., febre maculosa) tem distribuição geográfica restrita, enquanto infecções com outros vetores, como piolho (*R. prowazekii*), pulga (*R. typhi*) e ácaros (*R. akari*, *O. tsutsugamushi*) têm distribuição mundial (Tabela 34-2).

Em 2011, foram relatados mais de 2.800 casos de febre maculosa das Montanhas Rochosas nos Estados Unidos. Mais de 90% das infecções ocorreram de **abril a setembro**, correspondendo ao período de maior atividade dos carrapatos, com a maioria das infecções sendo relatadas em cinco estados: Carolina do Norte, Oklahoma, Arkansas, Tennessee e Missouri. O principal reservatório e vetor para *R. rickettsii* é o **carrapato duro** da família Ixodidae. Os três carrapatos duros mais comumente associados à doença nos Estados Unidos são o **carrapato americano do cão** (*Dermacentor variabilis*) nos estados do sudeste e costa oeste, o **carrapato castanho do cão** (*Rhipicephalus sanguineus*) no Arizona e o **carrapato da floresta** (*Dermacentor andersoni*) nos estados das Montanhas Rochosas e sudoeste do Canadá. Outros carrapatos vetores foram identificados nas Américas Central e do Sul. Para ocorrer transmissão, a pessoa deve ser exposta ao carrapato por

período prolongado (p. ex., ≥6 horas). As riquétsias avirulentas dormentes são ativadas pela alimentação com sangue quente e depois liberadas das glândulas salivares do carrapato para o sangue do hospedeiro humano.

R. akari, o agente responsável por causar **riquetsiose vesicular**, é uma das poucas riquétsias no grupo da febre maculosa que tem distribuição **cosmopolita** e é transmitida por **ácaros** infectados. A doença confirmada por cultura tem sido relatada na Ucrânia, na Croácia, na Coreia e nos Estados Unidos, principalmente na área da cidade de Nova York. Um grupo de casos na cidade de Nova Iorque foi documentado após a liberação de Bacillus anthracis em 2001, quando biópsias de escaras de residentes da cidade demonstraram conter R. akari e não B. anthracis. Com base nessa experiência, é provável que a riquetsiose vesicular seja subdiagnosticada em áreas endêmicas. As infecções por R. akari são mantidas na população de roedores pela mordida de ectoparasitas de camundongos (p. ex., ácaros) e em ácaros pela transmissão transovariana. Os seres humanos tornam-se hospedeiros acidentais quando mordidos por ácaros infectados.

R. prowazekii, um dos dois membros do grupo do tifo das riquétsias, é o agente etiológico do **tifo epidêmico** ou **tifo trazido por piolhos**. Os **humanos** são o principal reservatório dessa doença e o vetor é o **piolho do corpo humano**, Pediculus humanus. O tifo epidêmico ocorre em pessoas que vivem em aglomerados e más condições sanitárias, o que favorece a disseminação dos piolhos do corpo — condições semelhantes às que aparecem durante guerras, escassez de alimentos e desastres naturais. Os piolhos morrem da sua infecção dentro de 2 a 3 semanas, evitando a transmissão transovariana de R. prowazekii. A doença está presente nas Américas Central e do Sul, na África e, menos comumente, nos Estados Unidos.

A incidência da doença nos Estados Unidos é desconhecida, pois não é uma doença de notificação obrigatória ao departamento de saúde pública. A doença esporádica nos Estados Unidos está restrita principalmente às áreas rurais dos estados do Leste. Nessa área, **esquilos voadores**, assim como pulgas e os piolhos dos esquilos, são infectados com *R. prowazekii*. Os piolhos dos esquilos não se alimentam em seres humanos, mas as pulgas são menos discriminatórias e podem ser responsáveis pela transmissão de *Rickettsia* dos esquilos para o homem. As evidências epidemiológicas e sorológicas sustentam essa hipótese.

O recrudescimento da doença com *R. prowazekii* (**doença de Brill-Zinsser**) pode ocorrer nas pessoas vários anos após a infecção inicial. Nos Estados Unidos, essas pessoas são principalmente imigrantes do leste da Europa que foram expostos ao tifo epidêmico durante a Segunda Guerra Mundial.

O tifo endêmico ou tifo murino é causado por *R. typhi*. A doença é mundialmente distribuída, sobretudo em áreas quentes e úmidas. Nos Estados Unidos, são relatados anualmente 50 a 100 casos, a maioria nos estados do Golfo (especialmente Texas) e no sul da Califórnia. A doença endêmica continua sendo relatada em pessoas que vivem em áreas temperadas e subtropicais costeiras da África, da Ásia, da Austrália, da Europa e da América do Sul. Os **roedores** são os principais reservatórios, e a **pulga do rato** (*Xenopsylla cheopis*) é o principal vetor. Contudo, a **pulga do gato** (*Ctenocephalides felis*), que infesta gatos, gambás, guaxinins e cangambás, é considerada um importante vetor nos Estados Unidos. A maioria dos casos ocorre durante os meses quentes.

O. tsutsugamushi é o agente etiológico do **tifo do mato**, uma doença transmitida para o homem por **ácaros** (bicho de pé, ácaros vermelhos). O reservatório é a população de ácaros, nos quais as bactérias são transmitidas por meio transovariano. A infecção também está presente na população de **roedores**, que serve como reservatório para as infecções de ácaros. Acredita-se que os roedores não são um reservatório importante para a doença humana, porque os ácaros alimentam-se apenas uma vez durante sua vida, de modo que não conseguem transmitir a infecção de roedores para humanos. O tifo do mato está presente em pessoas que vivem na Ásia oriental, na Austrália, no Japão e em outras ilhas do Pacífico ocidental. Também pode ser importado para os Estados Unidos.

Doenças Clínicas

A febre maculosa das Montanhas Rochosas sintomática (Caso Clínico 34-1) se desenvolve 7 dias (variando de 2 a 14 dias) após a picada do carrapato (Tabela 34-3), embora o paciente possa não se lembrar da picada indolor do carrapato. O início da doença é anunciado por febre alta e cefaleia, que podem estar associadas a mal-estar, mialgia, náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia. Após 3 dias, 90% dos pacientes desenvolvem erupção cutânea macular inicialmente em punhos, braços e tornozelos que depois se espalha para o tronco. Pode haver envolvimento de palmas e plantas. A erupção cutânea pode evoluir para a forma maculosa ou petequial, a qual é prenúncio de doença mais grave. As complicações da febre maculosa das Montanhas Rochosas incluem manifestações neurológicas, insuficiência pulmonar, falência renal e anormalidades cardíacas. Um atraso no diagnóstico, seja porque a apresentação clínica não é característica ou o médico não reconhece a doença, está associado a pior prognóstico. A taxa de mortalidade da doença não tratada é de 10 a 25%.



Caso Clínico 34-1 Febre Maculosa das Montanhas Rochosas

Oster e colaboradores (*N Engl J Med* 297:859-863, 1977) descreveram uma série de pacientes que adquiriram febre maculosa das Montanhas Rochosas após trabalhar com *Rickettsia rickettsii* em laboratório. Um dos pacientes, um técnico em veterinária de 21 anos, apresentou-se a um clínico com queixas de mialgia e tosse não produtiva. Ele foi tratado com penicilina e liberado. Nos dias seguintes, o paciente desenvolveu calafrios e cefaleia. Quando retornou ao hospital, apresentava temperatura de 40°C e erupção cutânea macular nas extremidades e no tronco. Foi iniciada tetraciclina intramuscular, porém ele permaneceu febril e a erupção evoluiu para petéquias no tronco, nas extremidades e região

plantar. Desenvolveram-se efusões pleurais bilaterais e foi iniciada tetraciclina intravenosa. Nas 2 semanas seguintes, as efusões foram resolvidas e o paciente teve recuperação lenta, porém sem intercorrências. Embora esse paciente não estivesse trabalhando diretamente com *R. rickettsiae*, ele visitou um laboratório que estava trabalhando com a bactéria. Esse paciente ilustra a apresentação característica da febre maculosa das Montanhas Rochosas — cefaleia, febre, mialgia e erupção cutânea macular que pode evoluir para erupção petequial ou maculosa.



Tabela 34-3

Doenças Humanas Causadas por Rickettsia e Bactérias Relacionadas

Doença	Período de Incubação Médio (dias)	Apresentação Clínica	Erupção Cutânea	Escara	Mortalidade sem Tratamento (%)
Febre maculosa das Montanhas Rochosas	7	Início abrupto; febre, cefaleia, mal-estar, mialgia, náuseas, vômitos, dor abdominal	>90%; macular; propagação centrípeta	Não	10-25
Riquetsiose vesicular	9-14	Início abrupto; febre, cefaleia, calafrios, mialgia, fotofobia	100%; papulovesicular; generalizada	Sim	Baixa
Tifo epidêmico	8	, and the second		Não	20
Tifo endêmico	7-14	Início gradual; febre, cefaleia, mialgia, tosse	50%; erupção cutânea maculopapular no tronco	Não	Baixa
Tifo do mato	10-12	Início abrupto; febre, cefaleia, mialgia	<50%; erupção cutânea maculopapular; centrífuga	Não	1-15
Erliquiose monocítica humana	7-14	Febre alta, mal-estar, cefaleia, mialgia; leucopenia, trombocitopenia, elevação das transaminases	Erupção cutânea (mais comum em crianças do que em adultos)	Não	2-3
Erliquiose granulocítica humana			Erupção cutânea	Não	Dados insuficientes
Anaplasmose granulocítica humana	5-10	Febre alta, cefaleia, mal-estar, mialgia, leucopenia, trombocitopenia, elevação das transaminases	Erupção cutânea em < 10% dos pacientes	Não	<1
Febre Q	10-14 Início abrupto; febre alta, cefaleia, mal-estar, mialgia; pode progredir para hepatite, pneumonia ou endocardite subaguda (febre Q crônica)		Não	Não	<5

A infecção clínica com *R. akari* (riquetsiose vesicular) é bifásica. Inicialmente se desenvolve uma pápula no local onde o ácaro picou o hospedeiro. A pápula aparece aproximadamente 1 semana após a picada e progride rapidamente para ulceração e depois para a **formação de uma escara**. Durante esse período, as riquétsias se espalham sistemicamente. Após o período de incubação de 7 a 24 dias (média de 9 a 14 dias), a segunda fase da doença se desenvolve abruptamente, com **febre** alta, cefaleia intensa, tremores, suores, mialgia e fotofobia. Uma **erupção cutânea papulovesicular** generalizada se forma em 2 a 3 dias. A seguir há progressão da erupção, semelhante à catapora, com formação de vesículas posteriormente cobertas por uma crosta. A presença da erupção cutânea distingue essa doença da doença causada pelo antraz e deve ser levantada a hipótese de riquetsiose vesicular em paciente com febre alta e escara. Apesar da aparência da erupção cutânea disseminada, a riquetsiose vesicular usualmente é leve e não complicada, e a cura completa é observada dentro de 2 a 3 semanas sem tratamento (Caso Clínico 34-2).



Caso Clínico 34-2 Riquetsiose Vesicular na Cidade de Nova Iorque

Koss e associados (*Arch Dermatol* 139:1545-1552, 2003) descreveram 18 pacientes com riquetsiose vesicular diagnosticados no Columbia Presbyterian Medical Center, na cidade de Nova Iorque, durante o período de 20 meses após o ataque de bioterrorismo com antraz, no outono de 2001. Os pacientes foram ao hospital porque apresentavam escara necrótica e o diagnóstico de antraz cutâneo foi considerado. Os pacientes também apresentavam febre, cefaleia e erupção

papulovesicular. Muitos pacientes também apresentavam queixas de mialgia, dor de garganta, artralgias e sintomas gastrointestinais. A coloração imuno-histoquímica da escara e biópsias da pele confirmaram o diagnóstico de riquetsiose vesicular e não de antraz cutâneo. Esses pacientes ilustram as dificuldades diagnósticas de reconhecer doenças incomuns, mesmo quando a apresentação clínica é característica.

Em um estudo de tifo epidêmico na África, foi observado desenvolvimento da doença clínica em média 8 dias após a exposição (variação de 2 a 30 dias). Inicialmente, a maioria dos pacientes apresentava sintomas inespecíficos e, depois de 1 a 3 dias, **febre** alta, **cefaleia** intensa e **mialgia**. Outros sintomas podem incluir pneumonia, artralgia e envolvimento neurológico (estupor, confusão e coma). Muitos pacientes desenvolvem erupção cutânea petequial ou macular, mas a observação pode ser obscurecida em indivíduos com pigmentação escura. A taxa de mortalidade na ausência de tratamento é de 20 a 30%, mas pode ser muito mais alta em populações com más condições de saúde e de nutrição, e com falta de apoio médico adequado. Em pacientes com doença não complicada, a temperatura corporal retorna ao normal dentro de 2 semanas, mas a convalescença completa pode levar 3 meses ou mais. As riquétsias podem permanecer dormentes por anos e, então, reativarem, causando o tifo epidêmico recrudescente ou doença de Brill-Zinsser. No momento em que os sintomas se desenvolvem, ocorre a bacteremia e o paciente é potencialmente infeccioso para os piolhos. O curso dessa forma da doença geralmente é mais leve e, com frequência, não aparece erupção cutânea, o que torna o diagnóstico mais difícil.

O período de incubação da doença por *R. typhi* (tifo murino) é de 7 a 14 dias. Os sintomas, em geral, aparecem abruptamente com febre, cefaleia intensa, calafrios, mialgia e náuseas. Uma erupção cutânea se desenvolve em cerca de metade dos pacientes infectados, mais comumente tardia no curso da doença. Tipicamente, encontra-se restrita ao tórax e ao abdome. O curso da doença quase sempre não é complicado, durando menos de 3 semanas, mesmo em pacientes não tratados.

A doença por *O. tsutsugamushi* (tifo do mato) desenvolve-se abruptamente após um período de incubação de 6 a 18 dias (média de 10 a 12 dias), com **cefaleia** intensa, **febre** e **mialgia**. Uma erupção cutânea, macular a papular, se desenvolve no tronco em menos da metade dos pacientes e se espalha centrifugamente para as extremidades. Podem ocorrer linfadenopatia generalizada, esplenomegalia, complicações do sistema nervoso central e insuficiência cardíaca. Em pacientes não tratados, a febre desaparece após 2 a 3 semanas.

Diagnóstico Laboratorial

Microscopia

Embora riquétsias não corem bem pela coloração de Gram, elas podem ser coradas com as colorações de Giemsa ou Gimenez. Também podem ser usados anticorpos específicos, marcados com fluoresceína para corar as bactérias intracelulares em amostras de tecido de biópsia. Essa detecção direta de antígenos de *R. rickettsiae* é um método rápido e específico para confirmar o diagnóstico clínico de febre maculosa das Montanhas Rochosas, mas está disponível apenas em laboratórios de referência.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Os testes específicos de amplificação de ácidos nucleicos são atualmente usados para o diagnóstico de doenças por riquétsias em muitos laboratórios de referência. Infelizmente, esses ensaios são relativamente insensíveis quando utilizadas amostras de sangue.

Cultura

Embora o isolamento de riquétsias em cultura de tecidos ou em ovos embrionados seja relativamente fácil, apenas laboratórios de referência, com extensa experiência em riquétsias, realizam essas culturas rotineiramente. Se for escolhida a realização de cultura, devem ser processadas preparações *buffy coat* (camada leucoplaquetária) de sangue ou de amostras de biópsia cutânea.

Detecção de Anticorpos

O teste de Weil-Felix (que envolve a aglutinação diferencial dos antígenos de reação cruzada de *Proteus*) foi historicamente usado para o diagnóstico de infecções por riquétsias, mas, por ser insensível e inespecífico, não é mais recomendado. Infelizmente, esse teste ainda é usado em laboratórios com recursos limitados. O teste de sorologia considerado o método de referência é o teste de microimunofluorescência (MIF). O teste detecta anticorpos dirigidos contra as proteínas externas da membrana (espécie-específicas) e o antígeno LPS. Como o antígeno LPS é compartilhado entre as espécies de riquétsias, o imunoensaio *Western blot* deve ser realizado para definir a espécie individual. A sensibilidade e a especificidade da MIF são altas, detectando níveis diagnósticos de anticorpos quase sempre na segunda semana da doença. Também estão disponíveis testes imunoenzimáticos comercialmente preparados, mas em geral têm sensibilidade e especificidade mais baixas quando comparados com MIF.

Tratamento, Prevenção e Controle

O medicamento de escolha para o tratamento de todas as infecções por riquétsias é a **doxiciclina**. Embora as tetraciclinas estejam geralmente contraindicadas para mulheres grávidas e crianças pequenas, esse antibiótico é recomendado para o tratamento de todos os pacientes com suspeita de riquetsiose por ser o antibiótico mais eficaz e porque a doença tratada inadequadamente está associada a elevadas morbidade e mortalidade. As fluoroquinolonas (p. ex., ciprofloxacina) têm boa atividade *in vitro*, mas a experiência clínica é insuficiente para sua recomendação como terapia principal. Ainda que o cloranfenicol também tenha atividade *in vitro* contra riquétsias, seu uso para o tratamento das infecções está associado a alta incidência de recidiva. O diagnóstico rápido e instituição de terapia apropriada imediata geralmente resultam em prognóstico satisfatório; infelizmente, esse cenário pode não ocorrer se os sinais clínicos característicos (p. ex., erupção cutânea) se desenvolverem mais tarde ou não se desenvolverem. Além disso, os achados sorológicos não estão frequentemente disponíveis antes de 2 semanas ou mais após o início da doença, também retardando o começo do tratamento. Desse modo, recomenda-se que a terapia empírica com doxiciclina seja iniciada logo que o diagnóstico seja considerado.

Não estão disponíveis vacinas para riquetsioses, exceto para o tifo transmitido pelo piolho. A prevenção da doença envolve evitar áreas infestadas com carrapatos, uso de vestuário protetor e de repelente contra insetos, além da imediata remoção dos carrapatos aderidos. O controle de roedores é importante para as doenças onde estes representam um reservatório importante. Medidas eficazes de controle de piolho são usadas para conter o tifo epidêmico.

Anaplasmataceae

Os gêneros *Ehrlichia* e *Anaplasma* consistem em bactérias intracelulares que parasitam granulócitos, monócitos, eritrócitos e plaquetas. Três espécies desses gêneros são importantes patógenos humanos: *Ehrlichia chaffeensis*, responsável por **erliquiose monocítica humana**; *Ehrlichia ewingii*, o agente etiológico da **erliquiose granulocítica humana**; e *Anaplasma phagocytophilum*, o agente da **anaplasmose granulocítica humana**.

Fisiologia e Estrutura

Ao contrário de *Rickettsia* e *Orientia, Ehrlichia* e *Anaplasma* permanecem no vacúolo fagocitário após a entrada na célula hospedeira. A fusão com lisossomos é evitada porque a expressão dos receptores adequados na superfície do vacúolo fagocitário é interrompida. Assim, as bactérias podem multiplicar-se por fissão binária no fagossomo sem exposição às enzimas hidrolíticas lisossomais. Existem duas formas morfológicas das bactérias: **corpúsculos elementares** pequenos (0,2 a 0,4 μm) e **corpúsculos reticulares** maiores (0,8 a 1,5 μm). Poucos dias após a célula ser infectada, os corpúsculos elementares em replicação se reunem em massas envolvidas por membrana, chamadas **mórulas** (Fig. 34-2). A progressão da infecção provoca lise da célula infectada, liberação das bactérias e subsequente infecção de novas células. A detecção das mórulas nas células coradas por **Giemsa** ou **Wright** é um teste diagnóstico rápido e específico; porém, podem ser visualizadas relativamente poucas células infectadas, de modo que um teste negativo não é útil.

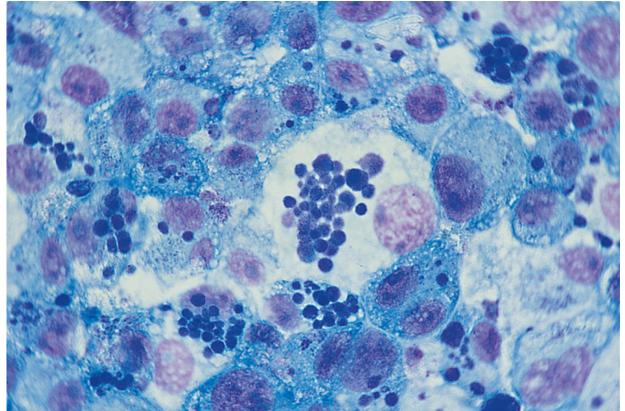


FIGURA 34-2 Múltiplas mórulas de *Ehrlichia canis* (*E. chaffeensis*) em células de cultura tecidual DH82. (De Cohen J, Powderly WG: *Infectious diseases*, ed 2, St Louis, 2004, Mosby.)

A estrutura de parede celular de *Ehrlichia* e *Anaplasma* é semelhante à das demais bactérias Gram-negativas; porém, as bactérias não têm genes para síntese de peptidoglicano ou LPS. Além disso, muitos dos genes da via glicolítica também estão ausentes. Vários antígenos proteicos são compartilhados entre espécies desses gêneros, assim como com espécies de outros gêneros. Por isso, frequentemente são observados anticorpos de reações cruzadas em testes sorológicos.

Patogênese e Imunidade

A localização intracelular dos organismos protege-os da resposta dos anticorpos do hospedeiro. No entanto, acredita-se que o estímulo bacteriano para produção de citocinas pró-inflamatórias tem papel importante na ativação dos macrófagos que agem ou diretamente nas células infectadas ou em bactérias opsonizadas por anticorpos durante sua fase extracelular.

Epidemiologia (Tabela 34-2)

A primeira infecção humana por esses organismos nos Estados Unidos foi descrita em 1986. Em 2011, cerca de 2.575 casos de erliquiose e anaplasmose foram relatados nos Estados Unidos. A prevalência da doença é subestimada, pois os estudos sorológicos mostraram que anticorpos para *E. chaffeensis* são pelo menos tão comuns quanto anticorpos para *R. rickettsii*, que têm distribuição geográfica semelhante. A doença por *E. chaffeensis* nos Estados Unidos é encontrada principalmente nos estados do centro-oeste (Missouri, Arkansas, Oklahoma) e da costa Atlântica (Maryland, Virgínia, Nova Jersey, Nova Iorque). Essa área corresponde à distribuição geográfica do *Amblyomma americanum* (carrapato-estrela-solitária), o vetor primário responsável pela transmissão do micro-organismo, e do veado de cauda branca, um reservatório importante para *E. chaffeensis*. Outros animais que podem servir como hospedeiros incluem cães domésticos, raposas, coiotes e lobos. *E. Ewingii* é relativamente incomum e foi relatada principalmente no Missouri.

A doença causada por *A. phagocytophilum* é encontrada principalmente nos estados do alto centro-oeste (Minnesota e Wisconsin) e estados do nordeste Atlântico (Massachusetts, Connecticut, Nova Iorque e Nova Jersey). Os reservatórios são mamíferos pequenos (p. ex., camundongo de patas brancas, esquilos e ratos silvestres), e os vetores são carrapatos *Ixodes*. Mais de 90% de todas as doenças causadas por *Ehrlichia* e *Anaplasma* nos Estados Unidos acontecem entre meados de abril e o final de outubro.

A transmissão transovariana de *Ehrlichia* e *Anaplasma* em carrapatos não acontece (ao contrário de *Rickettsia* e *Orientia*), de modo que essas bactérias devem ser mantidas em reservatórios de hospedeiros vertebrados. Os carrapatos são infectados quando um estádio imaturo (p. ex., larva ou ninfa) se alimenta do sangue de um hospedeiro naturalmente infectado, e então transmite as bactérias a outro hospedeiro mamífero (p. ex., humanos) durante a sua próxima alimentação de sangue. Os seres humanos são hospedeiros acidentais e, por isso, a transmissão termina nesse *estádio*.

Doenças Clínicas

A erliquiose monocítica humana é causada por *E. chaffeensis*, após a infecção de monócitos e fagócitos mononucleares em tecidos e órgãos. Aproximadamente 1 a 2 semanas após a picada do carrapato, os pacientes desenvolvem uma doença semelhante à gripe, com febre alta, cefaleia, fraqueza e mialgia. Uma erupção cutânea de início tardio se desenvolve em 30 a 40% dos pacientes (mais comum em crianças do que em adultos). A maioria dos pacientes desenvolve leucopenia, trombocitopenia e elevação das transaminases séricas, que podem variar de moderadas a graves. Embora a mortalidade seja baixa (2 a 3%), mais da metade dos pacientes infectados requerem hospitalização e experimentam um longo período de recuperação. Síndrome séptica fulminante pode desenvolver-se, especialmente em pacientes imunocomprometidos. A patologia dessa infecção não é proporcional ao número de células infectadas nem à carga microbiana presente no tecido. Acredita-se que *E. chaffeensis* perturbe o funcionamento dos fagócitos mononucleares e a regulação da resposta inflamatória. Assim, a resposta imune elimina o patógeno e produz grande parte do dano tecidual.

Erliquiose Granulocítica Humana (Canina)

E. ewingii causa doença principalmente em caninos, sendo o homem um hospedeiro acidental. Em consequência da reatividade sorológica cruzada entre *E. ewingii* e *E. chaffeensis*, a incidência de infecções por esse organismo provavelmente é subestimada. A apresentação clínica é semelhante à de *E. chaffeensis*, com febre, cefaleia e mialgia. Também são observadas leucopenia, trombocitopenia e elevação das transaminases séricas.

Anaplasmose Humana (Caso Clínico 34-3)

A anaplasmose granulocítica humana é causada por *A. phagocytophilum*. Os granulócitos (i.e., neutrófilos, eosinófilos, basófilos) são infectados primariamente. A doença aparece 5 a 10 dias após a exposição com apresentação semelhante à da gripe — febre alta, cefaleia, mal-estar e mialgia; a erupção cutânea é observada em menos de 10% dos pacientes. Assim como na erliquiose monocítica humana, na maioria dos pacientes são observadas leucopenia, trombocitopenia e elevação das transaminases. Mais de metade dos pacientes infectados requerem hospitalização e podem ocorrer complicações graves, principalmente neuropatias periféricas (p.ex., polineuropatia desmielinizante, paralisia facial). Apesar do potencial de gravidade dessa doença, a mortalidade é inferior a 1%. Assim como nas infecções por *E. chaffeensis*, a patologia dessa doença parece estar relacionada com a ativação de macrófagos.



Caso Clínico 34-3 Anaplasmose Humana

Heller e colaboradores (*N Engl J Med* 352:1358-1364, 2005) descreveram o caso de um homem de 73 anos que se apresentou no hospital com febre, fraqueza e mialgia nas pernas. Seis dias antes de sua admissão, ele havia viajado para a Carolina do Sul e 3 dias depois apresentou intensas dores nas pernas, febre alta e fraqueza generalizada. Na admissão, o paciente se apresentava febril, taquicárdico e hipertenso; o fígado e o baço não palpáveis, e não foi observada erupção cutânea. Cultura para bactérias, fungos e vírus foram negativas. Um esfregaço do sangue periférico mostrou raras inclusões citoplasmáticas nos granulócitos, sugestivas de mórulas. A PCR de amostras de sangue coletadas no segundo e no terceiro dias de hospitalização foi positiva para DNA de *A. phagocytophilum*, confirmando o diagnóstico de anaplasmose. O paciente foi tratado com sucesso por 14 dias com doxiciclina, embora a fraqueza muscular e a dor residual persistissem. O soro coletado durante o período de convalescença foi positivo para *Anaplasma*. É importante salientar que o paciente não se lembrava de ter sido picado por carrapato durante sua viagem à Carolina do Sul, o que é consistente com a observação de que estádios iniciais do carrapato, larva e ninfas são mais comumente associados a doença humana.

Diagnóstico Laboratorial

A apresentação clínica das infecções por *Ehrlichia* e *Anaplasma* não é distinguível, e embora a distribuição geográfica das doenças tenha pouca sobreposição, são necessários testes laboratoriais para diagnóstico definitivo. A microscopia tem valor limitado porque as bactérias coram-se fracamente pela coloração de Gram, e a detecção de inclusões citoplasmáticas (agrupados de organismos, mórulas) em esfregaços de sangue periférico corados pelo Giemsa é útil apenas durante a primeira semana da doença. As mórulas são identificadas em menos de 10% dos pacientes com erliquiose monocítica e em 25 a 75% dos pacientes com anaplasmose granulocítica. Embora os organismos *Ehrlichia* possam ser cultivados *in vitro* em linhagens estabelecidas de células, esse procedimento não é executado na maioria dos laboratórios clínicos. Os métodos mais comuns para o diagnóstico laboratorial de erliquiose são testes de amplificação de ácidos nucleicos (AAN) e sorologia. Os testes de amplificação de DNA espécie-específicos estão disponíveis em alguns laboratórios de referência e podem fornecer um teste sensível e específico para a doença aguda. Tipicamente é observado o aumento no título de anticorpos em 3 a 6 semanas após a apresentação inicial, de modo que esses testes sorológicos são primariamente confirmatórios. A sensibilidade dos testes de AAN e da sorologia é reduzida em pacientes sob terapia efetiva. *E. chaffeensis* e *E. ewingii* são intimamente relacionados e não podem ser diferenciados por sorologia. A especificidade dos testes de sorologia é comprometida pelas reações cruzadas com organismos causadores da febre maculosa das Montanhas Rochosas, febre Q, doença de Lyme, brucelose e infecções pelo vírus Epstein-Barr.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os pacientes com suspeita de erliquiose e anaplasmose devem ser tratados com **doxiciclina**. O tratamento não deve retardado para aguardar a confirmação laboratorial da doença. A rifampicina tem sido usada para tratar pacientes que não toleram doxiciclina. Fluoroquinolonas, penicilinas, cefalosporinas, cloranfenicol, aminoglicosídeos e macrolídeos não são eficazes. A infecção é prevenida evitando-se as áreas infestadas por carrapatos e usando-se roupa protetora e repelentes de insetos. Os carrapatos aderidos devem ser rapidamente removidos. Não existem vacinas disponíveis.

Coxiellaceae

Coxiella burnetii

Coxiella burnetii são bactérias Gram-negativas que coram fracamente com coloração de Gram, crescem intracelularmente em células eucarióticas e estão associadas a artrópodes (p. ex., carrapatos). A doença causada por *C. burnetii* é a **febre Q** ("Q" de *query*: dúvida, questão), assim chamada porque a investigação inicial de um surto em trabalhadores de matadouros australianos não identificou o organismo causal.

Fisiologia e Estrutura

Estão identificadas duas formas estruturais de *C. burnetii*: **variantes de células pequenas**, resistentes a estresse ambiental (p. ex., aquecimento, dessecação, agentes químicos) e **variantes de células grandes** que constituem a forma metabolicamente ativa. Além disso, *C. burnetii* sofre uma transição de fase semelhante à que é observada em algumas outras bactérias Gram-negativas. Na fase observada na natureza (**fase I**), *C. burnetii* tem o LPS intacto; entretanto, podem ocorrer mutações nos genes de LPS, resultando em uma molécula com lipídio A e açúcares centrais sacarídeos, mas sem os açúcares do antígeno O, mais externos (**fase II**). Essa variação de fase é importante para entender a progressão da doença, bem como para propósitos diagnósticos.

As variantes de células pequenas aderem a macrófagos e monócitos e são internalizadas em um vacúolo fagocítico. A progressão normal após a fagocitose da maioria dos organismos é a fusão do fagossomo com uma série de endossomos (vesículas intracelulares), resultando em queda do pH intracelular, seguida por fusão com lisossomos que contêm enzimas hidrolíticas, e consequente morte bacteriana. Isso acontece com *C. burnetii* se forem ingeridos os organismos de fase II; no entanto, a *Coxiella* de fase I é capaz de parar esse processo antes da fusão dos lisossomos. Além disso, os organismos necessitam de pH ácido para as suas atividades metabólicas, o que, por sua vez, protege-os da atividade bactericida da maioria dos antibióticos.

Patogênese e Imunidade

Os patógenos intracelulares que se replicam lentamente precisam evitar a morte celular programada (apoptose), um componente importante da imunidade intrínseca. *Coxiella* é capaz de regular as vias de sinalização da sua célula fagocítica, de modo que a morte da célula seja retardada. A capacidade de *C. burnetii* em causar doença aguda ou crônica é, em parte, determinada por sua capacidade de sobreviver intracelularmente. Na presença de interferon-γ, a fusão do fagossomo com o lisossomo acontece, conduzindo a morte bacteriana; porém, em infecções crônicas, a interleucina-10 é sobreproduzida pela célula do hospedeiro, o que interfere com a fusão e permite a sobrevivência intracelular de *C. burnetii*.

Epidemiologia (Tabela 34-2)

C. burnetii é extremamente estável a condições ambientais severas e pode sobreviver no solo e no leite por meses ou anos. A variedade de hospedeiros para C. burnetii é grande, com infecções encontradas em mamíferos, pássaros e inúmeras espécies de carrapatos. Animais de fazenda, como ovelhas, gado e cabras, bem como gatos, cães e coelhos recém-infectados, são os reservatórios primários para a doença humana. As bactérias podem alcançar altas concentrações na placenta de gado infectado. Placentas secas deixadas no chão após o parto, urina, fezes e fezes de carrapato podem contaminar o solo, que, por sua vez, pode servir como foco para infecção caso as bactérias sejam veiculadas no ar e inaladas. As infecções humanas ocorrem após inalação de partículas do ar de uma fonte ambiental contaminada ou, menos frequentemente, pela ingestão de leite não pasteurizado ou produtos lácteos. Os carrapatos não transmitem a doença aos seres humanos.

A febre Q tem uma distribuição mundial. Embora menos de 150 infecções sejam relatadas anualmente nos Estados Unidos, esse número é certamente uma subestimação da atual prevalência da doença. Nos Estados Unidos, a infecção em animais de abate é comum, mas a doença sintomática é rara. A exposição humana, especialmente de fazendeiros, veterinários e manipuladores de alimentos, é frequente e os estudos experimentais revelaram que a dose infecciosa de *C. burnetii* é pequena (≤10 bactérias). Assim, a maioria das infecções humanas é assintomática ou leve, o que é confirmado por estudos sorológicos que demonstraram que a maioria das pessoas com anticorpos detectáveis não tem história de doença. As infecções também não são detectadas porque os testes diagnósticos para *C. burnetii* não costumam ser considerados.

Doenças Clínicas (Caso Clínico 34-4)

A maioria dos indivíduos expostos a *C. burnettii* tem uma **infecção assintomática** e a maioria das infecções sintomáticas é leve, apresentando-se com **sintomas semelhantes aos da gripe** não específicos com início abrupto, febre alta, fadiga, cefaleia e mialgia. Menos de 5% dos indivíduos infectados desenvolvem sintomas suficientemente graves que necessitam de hospitalização, sendo **hepatite**, **pneumonia** ou **febres** isoladas as apresentações mais comuns. A hepatite geralmente é assintomática ou se apresenta com febre e aumento das transaminases. A maioria dos casos de pneumonia é branda, com

tosse não produtiva, febre e sinais não específicos na radiografia do tórax. Histologicamente, são tipicamente observados granulomas difusos nos órgãos envolvidos. A febre Q crônica (sintomas por mais de 6 meses) pode se desenvolver meses ou anos após a exposição inicial e ocorre quase que exclusivamente em pacientes com condições predisponentes, tais como doença cardíaca valvular ou imunossupressão. A apresentação mais comum é a **endocardite subaguda**, que pode ser difícil de diagnosticar em razão da ausência de sinais e sintomas específicos. Entretanto, a febre Q crônica é uma doença grave, com mortalidade e morbidade significativas, mesmo em pacientes rapidamente diagnosticados e tratados de maneira apropriada.



Caso Clínico 34-4 Endocardite por Coxiella burnetii

Karakousis e colaboradores (*J Clin Microbiol* 44:2283-2287, 2006) descreveram o caso de um homem de 31 anos, da Virgínia Ocidental, que desenvolveu endocardite crônica por *C. burnettii*. No momento da admissão hospitalar, o paciente descreveu história de 11 meses de febres, suores noturnos, tosse paroxística, fadiga e perda de peso. Ele tinha usado vários antibióticos para tratamento de bronquite, sem melhora. Sua história clínica pregressa era significativa para doença cardíaca congênita, com colocação de um *shunt* quando criança. Ele vivia em uma fazenda e participava do parto de seus bezerros. O exame cardíaco à admissão revelou sopro; não foram observados hepatoesplenomegalia ou sinais periféricos de endocardite, mas as enzimas hepáticas estavam elevadas. Todas as culturas sanguíneas para bactérias e fungos foram negativas; entretanto, anticorpos das fases I e II de *Coxiella* estavam muito elevados na sorologia. Foi iniciado tratamento com doxiciclina e rifampicina, e a febre rapidamente baixou. Embora um tratamento prolongado tenha sido recomendado, o paciente não cumpriu a recomendação, tornando-se rapidamente sintomático cada vez que interrompia um ou ambos os antibióticos. Ele também se recusou a tomar hidroxicloroquina por medo da toxicidade para a retina. Esse paciente exemplifica o risco de pacientes com doença cardíaca prévia e as dificuldades no tratamento dessa infecção.

Diagnóstico Laboratorial

A febre Q pode ser diagnosticada por meio de cultura (geralmente não realizada), sorologia ou reação em cadeia da polimerase (PCR). A cultura pode ser feita em células de cultura de tecidos e, recentemente, em meio sem células; entretanto, a cultura é raramente realizada, exceto em laboratórios de pesquisa autorizados a trabalhar com esses organismos altamente contagiosos. O teste diagnóstico mais comumente usado é a sorologia. Como mencionado antes, C. burnetii sofre variação de fase, caracterizada pelo desenvolvimento de antígenos de fases I e II. Os antígenos de fase I são apenas fracamente antigênicos. Uma variedade de métodos é usada para medir produção de anticorpos: testes de microaglutinação, teste de imunofluorescência indireta (IFI) e ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA). O IFI é o teste de escolha, embora ELISA seja usado em muitos laboratórios e pareça ser igualmente sensível. Ocorrem reações cruzadas com Bartonella, que pode causar uma doença semelhante, de modo que todos os testes sorológicos devem incluir ensaio para ambos os organismos. Na febre Q aguda, os anticorpos imunoglobulina M (IgM) e IgG são desenvolvidos principalmente contra antígenos de fase II. O diagnóstico de febre Q crônica é confirmado pela demonstração de anticorpos contra antígenos de fases I e II, com títulos tipicamente mais altos para fase I. Foram desenvolvidas técnicas de AAN, como PCR, em laboratórios de referência, mas geralmente não estão disponíveis para diagnósticos de rotina. Além disso, embora os testes sejam sensíveis para exames de amostras de tecido, a sensibilidade com soro é baixa. Os testes baseados em PCR não são necessários para diagnóstico de infecções crônicas por C. burnetii, porque esses pacientes caracteristicamente têm altos níveis de anticorpos presentes.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento de infecções agudas e crônicas por *C. burnetii* é orientado pela experiência clínica e não por testes de suscetibilidade *in vitro*. Atualmente, é recomendado que as infecções agudas sejam tratadas durante 14 dias com **doxiciclina**. A doenças crônica deve ser tratada por tempo prolongado com uma combinação bactericida de fármacos, **doxiciclina** e o agente alcalinizante hidroxicloroquina. As fluoroquinolonas (p. ex., ofloxacina, pefloxacina) têm sido usadas como alternativa à doxiciclina, mas são contraindicadas em crianças e mulheres grávidas.

Foram desenvolvidas vacinas para febre Q com células íntegras inativadas e vacinas com antígeno parcialmente purificado, e as vacinas preparadas a partir de organismos na fase I mostraram a melhor proteção. A vacinação de rebanhos animais parece ser eficaz, a menos que os animais tenham sido previamente infectados. A vacinação não erradica *Coxiella* em animais infectados nem diminui a contaminação por animais assintomáticos. Igualmente, a vacinação de seres humanos com vacinas de fase I é protetora em indivíduos não infectados. A vacinação de indivíduos previamente infectados é contraindicada porque a estimulação imune pode acarretar aumento de reações adversas. Por isso, é recomendada a vacina em dose única, sem imunização de reforço.

Referências Bibliográficas

Angelakis E, Raoult D. Review: Q fever. *Vet Microbiol*. 2010;140:297–309.

Bakken J, Dumler S. Human granulocytic anaplasmosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2008;22:433–448.

Dumler JS, Madigan JE, Pusterla N, et al. Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis*. 2007;45:S45–S51.

Dumler JS, Walker D. Rocky Mountain spotted fever—changing ecology and persisting virulence. N Engl J Med. 2005;353:551–553.

Ghigo E, Pretat L, Desnues B, et al. Intracellular life of Coxiella burnetii in macrophages: an update. Ann N Y Acad Sci. 2009;1166:55-66.

Gürtler L, Bauerfeind U, Blümel J, et al. Coxiella burnetii – pathogenic agent of Q (Query) fever. Transfus Med Hemother. 2014;41:60–72.

Ismail N, Bloch K, McBride J. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. Clin Lab Med. 2010;30:261–292.

Koss T, Carter EL, Grossman ME, et al. Increased detection of rickettsialpox in a New York City hospital following the anthrax outbreak of 2001. *Arch Dermatol.* 2003;139:1545–1552.

Paddock CD, Koss T, Eremeeva ME, et al. Isolation of *Rickettsia akari* from eschars of patients with rickettsialpox. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;75:732–738.

Parola P, Paddock C, Raoult D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:719–756.

Richards A. Rickettsial vaccines: the old and the new. Expert Rev Vaccines. 2004;3:541-555.

Rikihisa Y. Anaplasma phagocytophilum and Ehrlichia chaffeensis: subversive manipulators of host cells. Nat Rev Microbiol. 2010;8:328–339.

Shannon J, Heinzen R. Adaptive immunity to the obligate intracellular pathogen Coxiella burnetii. Immunol Res. 2009;43:138–148.

Chlamydia e Chlamydophila

Uma menina de 14 dias de vida foi readmitida na unidade de terapia intensiva pediátrica com insuficiência respiratória, dispneia, febre e uma tosse seca, não produtiva, paroxística (em staccato). As radiografias de tórax demonstraram broncopneumonia direita. O diagnóstico preliminar de pneumonia infantil por clamídia foi efetuado e confirmado por meio de ensaios de amplificação de ácidos nucleicos. Embora *Chlamydia trachomatis* seja o membro mais conhecido da família Chlamydiaceae, *Chlamydophila psittaci* e *Chlamydophila pneumoniae* também causam doenças importantes em humanos.

- 1. Quais membros da família Chlamydiaceae causam doenças respiratórias? Quais causam doenças oftálmicas? E quais causam doenças genitais?
- 2. Por que é importante saber que o sorotipo A de C. trachomatis não induz imunidade?
- 3. Quais testes laboratoriais são úteis para a confirmação do diagnóstico de infecções provocadas por *Chlamydia* e *Chlamydophila*?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Chlamydia trachomatis

Palavras-gatilho

Bactéria intracelular, corpúsculos reticulados e elementares, tracoma, pneumonia infantil, uretrite, linfogranuloma venéreo (LGV), pessoa a pessoa

Biologia e Virulência

- Pequenos bacilos Gram-negativos
- Parasita intracelular obrigatório de humanos
- Duas formas distintas: corpúsculos elementares infecciosos e corpúsculos reticulares não infecciosos
- Antígeno lipopolissacarídeo (LPS) compartilhado por espécies de Chlamydia e Chlamydophila
- Proteínas principais da membrana externa são espécie-específicas
- Dois biovares associados a doenças humanas: tracoma e LGV
- Infecta células epiteliais não ciliadas colunares, cuboides e de transição
- Previne a fusão do fagossomo aos lisossomos celulares

Epidemiologia

- Bactéria sexualmente transmitida mais comum nos Estados Unidos
- Tracoma ocular principalmente no norte e na região subsaariana da África, no Oriente Médio, no sul da Ásia e na América do Sul
- LGV altamente prevalente na África, na Ásia e na América do Sul

Doenças

- Efeitos patológicos do tracoma são causados por infecções repetidas
- Doenças veja o Quadro 35-1

Diagnóstico

- Cultura é altamente específica, mas relativamente insensível
- Testes de antígeno (imunofluorescência direta, ensaio imunoabsorvente ligado à enzima) são relativamente insensíveis
- Testes de amplificação molecular são os testes mais sensíveis e específicos disponíveis atualmente

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratar LGV com doxiciclina ou eritromicina
- Tratar infecções oculares ou genitais com azitromicina ou doxiciclina
- Tratar conjuntivite ou pneumonia de recém-nascidos com eritromicina

• Práticas de sexo seguro e tratamento imediato do paciente e de seus parceiros sexuais ajudam a controlar infecções

A família Chlamydiaceae consiste em dois gêneros com importância clínica, *Chlamydia* e *Chlamydophila*, com três espécies responsáveis por doenças em humanos: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila psittaci* e *Chlamydophila pneumoniae* (Tabela 35-1). Outras espécies também foram incluídas nesses dois gêneros, mas são patógenos incomuns em humanos e não serão discutidos neste capítulo.



Tabela 35-1

Chlamydiaceae Importantes

Organismo	Origem Histórica	
Chlamydia	chlamydis, "capa" ou "manto"	
C. trachomatis	trachomatis, de "tracoma" ou "áspero" (a doença chamada de tracoma é caracterizada por granulações nas superfícies conjuntivas que ocasionam inflamação crônica e cegueira)	
Chlamydophila	chlamydis, "capa"; phila, "afinidade" (afinidade pela capa; relativo a Chlamydia)	
C. pneumonia	pneumoniae, relativo à pneumonia	
C. psittaci	psittacus, "papagaio" (doença associada a aves)	

Chlamydiaceae são **parasitas intracelulares obrigatórios** que já foram considerados vírus, pois são pequenas o suficiente para passar através de filtros de 0,45 µm; no entanto, esses organismos apresentam as seguintes características das bactérias: (1) possuem membranas internas e externas, similares às das bactérias Gram-negativas; (2) contêm ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA); (3) possuem ribossomos procarióticos; (4) sintetizam suas próprias proteínas, ácidos nucleicos e lipídios; e (5) são suscetíveis a inúmeros antibióticos antibacterianos.

Diferentemente das outras bactérias, Chlamydiaceae apresentam um ciclo de desenvolvimento único, criando formas infecciosas metabolicamente inativas (corpúsculos elementares [CE]) e formas não infecciosas metabolicamente ativas (corpúsculos reticulados [CR]). As propriedades que diferenciam os três patógenos humanos importantes nessa família estão resumidas na Tabela 35-2.



Tabela 35-2

Diferenciação de Chlamydiaceae que Causam Doenças em Humanos

Propriedade	Chlamydia trachomatis	Chlamydophila pneumoniae	Chlamydophila psittaci
Relação de hospedeiros	Patógeno primariamente humano	Patógeno primariamente humano	Patógeno primariamente animal; ocasionalmente infecta seres humanos
Biovares	LGV e tracoma	TWAR	Muitos
Doenças	LGV; tracoma ocular, doença oculogenital, pneumonia de bebês	Bronquite, pneumonia, sinusite, faringite, doença arterial coronariana (?)	Pneumonia (psitacose)
Morfologia dos corpúsculos elementares	Redondo, espaço periplasmático estreito	Forma de pera, espaço periplasmático grande	Redondo, espaço periplasmático estreito
Morfologia dos corpúsculos de inclusão	Inclusão arredondada e única por célula	Múltiplas inclusões uniformes por célula	Múltiplas inclusões de tamanho variável por célula
DNA plasmidial	Sim	Não	Sim
Glicogênio corável por iodeto nas inclusões	Sim	Não	Não
Suscetibilidade a sulfonamidas	Sim	Não	Não

DNA, ácido desoxirribonucleico; LGV, linfogranuloma venéreo.

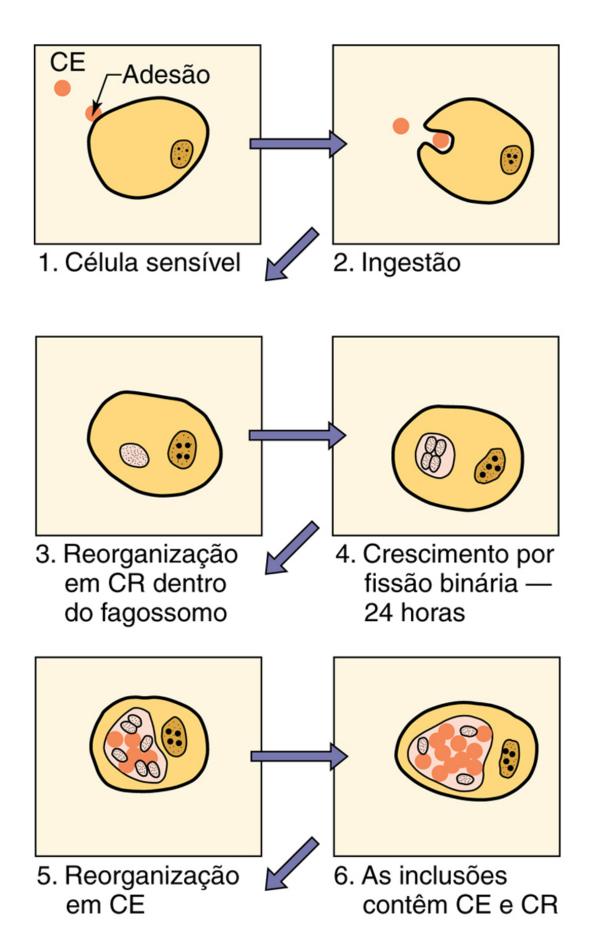
Família Chlamydiaceae

Fisiologia e Estrutura

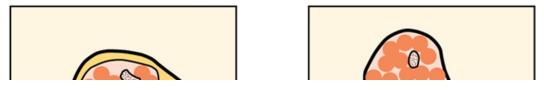
Assim como um esporo, os CE são resistentes a diversos fatores ambientais inóspitos. Apesar de evidências recentes demonstrarem uma camada de peptidoglicano na parede celular dos CR em replicação, isso não tem sido demonstrado nos CE. Mesmo que a camada de peptidoglicano possa estar ausente nos CE, eles possuem um núcleo denso central envolto por uma membrana citoplasmática e uma membrana exterior de camada dupla. A parede celular contém um **lipopolissacarídeo (LPS)** que é comum a todos os membros da família. O LPS apresenta apenas uma **fraca atividade de endotoxina**. A **proteína principal da membrana externa (MOMP**, *major outer membrane protein*) da parede celular é um componente estrutural importante da membrana externa, e é exclusivo de cada espécie. Regiões variáveis no gene que codifica essa proteína são encontradas em *C. trachomatis* e são responsáveis por 18 variantes sorológicas (chamadas **sorovares**). Regiões variáveis similares são encontradas na MOMP de *C. psittaci*; em contrapartida, a MOMP de *C. pneumoniae* é homogênea, e somente um sorovar foi descrito. Uma segunda proteína de membrana externa, altamente conservada, **OMP 2**, é compartilhada por todos os membros da família Chlamydiaceae. Essa proteína rica em cisteína é responsável pelas pontes dissulfeto que fornecem a estabilidade dos CE.

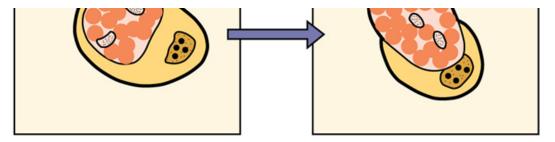
Os CE não podem se replicar, mas são infecciosos; isto é, eles podem ligar-se a receptores nas células hospedeiras e estimular a sua captura pela célula infectada. Nessa localização intracelular, os CE se convertem em CR, a forma replicante e metabolicamente ativa das clamídias. Em decorrência da ausência das proteínas de ligação cruzada, os CR são osmoticamente frágeis; no entanto, são protegidos por sua localização intracelular.

Os membros da família Chlamydiaceae se replicam por meio de um ciclo de crescimento único que ocorre dentro de células hospedeiras suscetíveis (Fig. 35-1). O ciclo é iniciado quando os pequenos (300 a 400 nm) CE infecciosos aderem às microvilosidades das células suscetíveis, seguido por uma penetração ativa na célula hospedeira. Depois de internalizadas, as bactérias permanecem dentro dos fagossomos citoplasmáticos, nos quais o ciclo de replicação prossegue. Se a membrana externa do CE estiver intacta, a fusão dos lisossomos celulares com os fagossomos contendo os CE é inibida, prevenindo, assim, a morte intracelular. Entre 6 e 8 horas após a entrada na célula, os CE se reorganizam em CR, maiores (800 a 1.000 nm) e metabolicamente ativos. As Chlamydiaceae são **parasitas de energia**, pois elas utilizam o trifosfato de adenosina da célula hospedeira para as suas demandas energéticas. Algumas cepas também podem depender do hospedeiro para o fornecimento de aminoácidos específicos. Os CR se replicam por meio de fissão binária, de maneira similar às outras bactérias, e marcações histológicas podem detectar prontamente o fagossomo contendo CR, chamado de **inclusão**. Aproximadamente 18 a 24 horas após a infecção, os CR começam a se reorganizar em CE menores, e entre 48 e 72 horas, a célula se rompe e libera as bactérias infecciosas.



Liberação dos CE clamidiais





Reorganização continuada

Extrusão da massa de CE por endocitose reversa

FIGURA 35-1 Ciclo de crescimento de *Chlamydia trachomatis*. *CE*, Corpúsculo elementar; *CR*, corpúsculo reticulado. (Modificada de Batteiger B, Jones R: Chlamydial infections, *Infect Dis Clin North Am* 1:55–81, 1987.)

Chlamydia trachomatis

C. trachomatis tem uma lista limitada de hospedeiros, com infecções restritas a humanos (Quadro 35-1). As espécies responsáveis por doenças em humanos estão subdivididas em dois biovares: tracoma e LGV. Os biovares são divididos em sorovares com base nas diferenças antigênicas da MOMP. Sorovares específicos estão associados a doenças específicas (Tabela 35-3).



Quadro 35-1 Chlamydiaceae: Resumos Clínicos

Chlamydia trachomatis

Tracoma: Processo inflamatório granulomatoso e crônico da superfície do olho, ocasionando ulceração corneal, formação de pano (*pannus*), surgimento de cicatrizes e cegueira

Conjuntivite de inclusão adulta: Processo agudo com secreção mucopurulenta, dermatite, infiltrado corneal e vascularização da córnea na doença crônica

Conjuntivite neonatal: Processo agudo caracterizado por secreção mucopurulenta

Pneumonia do bebê: Depois de período de incubação de 2 a 3 semanas, o bebê desenvolve rinite, seguida por bronquite com tosse seca característica

Infecções urogenitais: Processo agudo envolvendo o trato geniturinário com secreção mucopurulenta característica; infecções assintomáticas comuns em mulheres

Linfogranuloma venéreo: Uma úlcera indolor se desenvolve no local de inflamação que cicatriza espontaneamente, seguida por inflamação e inchaço dos linfonodos que drenam a área, havendo, então, progressão para sintomas sistêmicos

Chlamydophila pneumoniae

Infecções respiratórias: Variam de doença assintomática ou leve até pneumonia grave e atípica, que requer hospitalização

Aterosclerose: *C. pneumoniae* tem sido associada a placas inflamatórias nos vasos sanguíneos; o papel etiológico nessa doença é controverso

Chlamydophila psittaci

Infecções respiratórias: Varia de colonização assintomática a broncopneumonia grave com infiltração local de células inflamatórias, necrose e hemorragia



Tabela 35-3

Espectro Clínico de Infecções por Chlamydia trachomatis

Sorovares	Doenças
A, B, Ba, C	Tracoma
D-K	Doença do trato urogenital
L1, L2, L2a, L2b, L3	Linfogranuloma venéreo

Patogênese e Imunidade

A relação de células que *C. trachomatis* pode infectar é limitada. Receptores para os CE estão restritos principalmente a células epiteliais não ciliadas cuboides, colunares e de transição, que são encontradas, sobretudo, em membranas mucosas da uretra, endocérvice, endométrio, tubas uterinas, reto, trato respiratório e conjuntiva. Os sorovares de LGV são mais invasivos que os outros sorovares por se replicarem em fagócitos mononucleares. As manifestações clínicas de infecção por clamídias são causadas (1) pela destruição de células durante a replicação e (2) pela resposta de citocinas pró-inflamatórias que elas estimulam.

As clamídias penetram através de minúsculas abrasões ou lacerações. No LGV, as lesões se formam nos linfonodos que drenam o local de infecção primária (Fig. 35-2). A formação do granuloma é característica. As lesões podem se tornar necróticas, atrair leucócitos polimorfonucleares e fazer o processo inflamatório se espalhar para os tecidos adjacentes. A ruptura subsequente dos linfonodos acarreta formação de abscessos ou fístulas. A infecção por sorovares não LGV de *C. trachomatis* estimula resposta inflamatória intensa que consiste em neutrófilos, linfócitos e plasmócitos.



FIGURA 35-2 Paciente com linfogranuloma venéreo causando linfedema unilateral vulvar e bubões inguinais. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: *Infectious diseases*, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)

A infecção não confere imunidade de longa duração; pelo contrário, a reinfecção produz forte resposta inflamatória, com subsequente dano tecidual. Essa resposta provoca perda de visão em pacientes com infecções oculares crônicas, e formação de cicatrizes resultando em esterilidade e disfunção sexual em pacientes com infecções genitais.

Epidemiologia

C. trachomatis é encontrada em todo o mundo e causa tracoma (ceratoconjuntivite crônica), doenças oculogenitais, pneumonia e LGV. O tracoma é endêmico no norte da África e na África subsaariana, no Oriente Médio, no sul da Ásia e na América do Sul. A Organização Mundial da Saúde estima que 6 milhões de pessoas estejam cegas em consequência do tracoma, e que mais de 150 milhões de pessoas necessitam de tratamento. O tracoma é a principal causa evitável de cegueira. As infecções ocorrem predominantemente em crianças, os reservatórios principais de C. trachomatis nas áreas endêmicas. A incidência de cegueira é menor em crianças e adolescentes; no entanto, ela continua a aumentar durante a vida adulta, conforme a doença progride. O tracoma é transmitido de olho para olho por gotículas, mãos, vestimentas contaminadas e moscas que pousam nos olhos, transmitindo secreções oculares de crianças contaminadas para os olhos de crianças não infectadas. Já que alta porcentagem das crianças de áreas endêmicas abriga C. trachomatis nos seus tratos respiratório e gastrointestinal, o patógeno também pode ser transmitido por gotículas respiratórias ou contaminação fecal. O tracoma geralmente é endêmico de comunidades que vivem em aglomeração, em condições sanitárias precárias, e com hábitos de higiene pessoal deficientes — todos fatores de risco que favorecem a transmissão de infecções.

A maior parte dos casos de **conjuntivite de inclusão no adulto** por *C. trachomatis* ocorre em pessoas com 18 a 30 anos, e a infecção genital possivelmente precede o envolvimento ocular. Acredita-se que a autoinoculação e o contato oral-genital sejam as rotas de transmissão. Uma terceira forma de infecção ocular por *C. trachomatis* é a **conjuntivite de inclusão do**

recém-nascido, infecção adquirida durante a passagem do bebê por um canal de parto infectado. A conjuntivite por *C. trachomatis* se desenvolve em aproximadamente 25% dos bebês cujas mães apresentam infecções genitais ativas.

Infecções pulmonares por *C. trachomatis* também ocorrem em recém-nascidos. A **pneumonia intersticial** difusa se desenvolve em 10 a 20% dos bebês expostos ao patógeno no nascimento.

Acredita-se que *C. trachomatis* seja a **doença bacteriana transmitida sexualmente** mais comum nos Estados Unidos. Mais de 1,4 milhões de infecções foram relatadas no país em 2012; no entanto, acredita-se que esse quadro seja subestimado, pois a maioria dos pacientes infectados não procura tratamento médico ou, então, é tratada sem diagnóstico específico. Estima-se que quase 3 milhões de norte-americanos sejam infectados por ano e que cerca de 50 milhões de infecções ocorrem anualmente ao redor do mundo. A maioria das infecções do trato genital é causada pelos sorovares D a K.

O LGV é uma doença crônica sexualmente transmitida causada pelos sorotipos L1, L2, L2a, L2b e L3 de *C. trachomatis*. Ele ocorre esporadicamente nos Estados Unidos e em outros países industrializados, mas é altamente prevalente na África, na Ásia e na América do Sul. O LGV agudo é visto mais frequentemente em homens, sobretudo porque a infecção sintomática é menos comum em mulheres.

Doenças Clínicas

Tracoma

O tracoma é uma doença crônica causada pelos sorovares A, B, Ba e C. Inicialmente, os pacientes apresentam conjuntivite folicular com inflamação difusa que envolve toda a conjuntiva. As conjuntivas então começam a apresentar cicatrizes conforme a doença progride, fazendo com que as pálpebras do paciente virem-se para dentro. Os cílios voltados para dentro começam a danificar a córnea, ocasionando ulceração corneal, cicatrização, formação de pano (*pannus*, invasão de vasos para o interior da córnea) e perda de visão. É comum que o tracoma reapareça após aparente cura, mais provavelmente como resultado de infecções subclínicas que foram documentadas em crianças nas áreas endêmicas e em imigrantes dos Estados Unidos que adquiriram tracoma durante a infância em seus países de origem.

Conjuntivite de Inclusão do Adulto

Conjuntivite folicular aguda causada pelas cepas de *C. trachomatis*, associadas a infecções genitais (sorovares A, B, Ba, D a K), foi documentada em adultos sexualmente ativos. A infecção é caracterizada por secreção mucopurulenta, ceratite, infiltrados corneais e, ocasionalmente, alguma vascularização da córnea. A formação de cicatrizes na córnea foi observada em pacientes com infecção crônica.

Conjuntivite Neonatal

Infecções oculares também podem desenvolver-se em bebês expostos a *C. trachomatis* no nascimento. Depois de 5 a 12 dias de incubação, as pálpebras do bebê incham, ocorre hiperemia e aparece intensa secreção purulenta. Infecções não tratadas podem se estender por até 12 meses, tempo no qual ocorre vascularização da córnea e surgimento de cicatrizes na conjuntiva. Bebês não tratados, ou tratados somente com terapia tópica, correm risco de contrair pneumonia por *C. trachomatis*.

Pneumonia do Bebê (Caso Clínico 35-1)

O período de incubação da pneumonia do bebê é variável, mas o início se dá geralmente entre 2 e 3 semanas depois do nascimento. Pode-se observar rinite nesses bebês, inicialmente, depois da qual se desenvolve tosse paroxística (em *staccato*). A criança permanece sem febre ao longo da doença clínica, que pode durar várias semanas. Sinais radiográficos de infecção podem persistir por meses.



Caso Clínico 35-1 Pneumonia por Chlamydia trachomatis em Recém-nascidos

Niida e colaboradores (*Eur J Pediatr* 157:950-951, 1998) descreveram duas meninas com pneumonia por *C. trachomatis*. O primeiro bebê nasceu de parto normal depois de 39 semanas de gestação e o segundo por cesariana (em razão de sofrimento fetal) depois de 40 semanas de gestação. Os bebês estavam saudáveis até desenvolverem febre e taquipneia aos 3 e 13 dias, respectivamente. Radiografias do tórax mostraram infiltrados por toda a extensão dos pulmões. Culturas de sangue, urina, garganta, fezes e líquido cefalorraquidiano (LCR) foram negativas, mas testes para antígenos de *C. trachomatis* foram positivos a partir de *swabs* conjuntivais e nasofaríngeos. Esses casos ilustram a apresentação de pneumonia em bebês infectados com *C. trachomatis* no parto ou próximo ao nascimento, embora a tosse característica em *staccato* não tenha sido descrita.

Linfogranuloma Ocular Venéreo

Os sorotipos LGV de *C. trachomatis* têm sido implicados como causa da conjuntivite oculoglandular de Parinaud, uma inflamação da conjuntiva associada a linfadenopatia cervical, submandibular e pré-auricular.

Infecções Urogenitais (Caso Clínico 35-2)

A maior parte das infecções do trato genital em mulheres é assintomática (cerca de 80%), mas pode tornar-se sintomática. As manifestações clínicas incluem bartolinite, cervicite, endometrite, peri-hepatite, salpingite e uretrite. Pacientes com infecção clamidial assintomática são importantes reservatórios para a disseminação de *C. trachomatis*. Corrimento mucopurulento (Fig. 35-3) é observado em pacientes com infecção sintomática, e os espécimes dessas pacientes geralmente produzem mais organismos em culturas do que as amostras de pacientes com infecções assintomáticas. Uretrite causada por *C. trachomatis* pode ocorrer com ou sem infecção cervical concomitante.

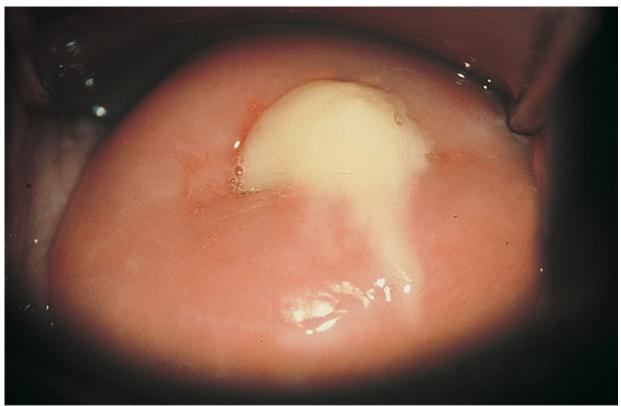


FIGURA 35-3 Cervicite mucopurulenta causada por *Chlamydia trachomatis*. (De Cohen J, Powderly W:Infectious diseases, ed 2, St Louis, 2004, Mosby. Fotografia de J. Paavonen.)

*

Caso Clínico 35-2 Síndrome de Reiter e Doença Inflamatória Pélvica

Serwin e colaboradores (*J Eur Acad Derm Vener* 20:735–736, 2006) descreveram um homem de 30 anos que se apresentou ao hospital universitário com queixas de disúria por período de 3 anos, inflamação peniana, inchaço nas articulações e febre. Lesões na pele e alterações nas unhas também foram observadas. Altos níveis de anticorpos para *Chlamydia* estavam presentes, mas testes de antígeno e de amplificação de ácidos nucleicos dos exsudatos uretrais e das conjuntivas foram negativos para *Chlamydia trachomatis*. O diagnóstico de síndrome de Reiter foi feito e o tratamento com ofloxacina, iniciado. Remissão completa das lesões de pele e dos sintomas uretrais foi obtida. A esposa do paciente também foi admitida no hospital com história de 2 anos de dor abdominal inferior, sangramentos e secreção vaginal. Foi feito o diagnóstico de doença inflamatória pélvica (DIP), e a infecção por *C. trachomatis* foi confirmada por testes antigênicos positivos cervicais e uretrais (anticorpo de fluorescência direta). O esfregaço vaginal também foi positivo para *Trichomonas vaginalis*. Esses pacientes ilustram duas complicações das infecções urogenitais por *C. trachomatis*: síndrome de Reiter e DIP.

Embora a maioria das infecções genitais por *C. trachomatis* em homens seja sintomática, cerca de 25% das infecções serão inaparentes. Aproximadamente 35 a 50% dos casos de uretrite não gonocócica são provocadas por *C. trachomatis*; infecções duplas por *C. trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* não são incomuns. Os sintomas de infecção por clamídia se desenvolvem após o tratamento bem-sucedido da gonorreia, pois o período de incubação é mais longo e o uso de antibióticos β-lactâmicos para tratar a gonorreia é ineficaz contra *C. trachomatis*. Ainda que haja menor exsudato purulento em pacientes com infecção uretral por clamídia, tais infecções não podem ser confiavelmente diferenciadas da gonorreia; portanto, testes diagnósticos para ambos os organismos devem ser realizados.

Acredita-se que a **síndrome de Reiter** (uretrite, conjuntivite, poliartrite e lesões mucocutâneas) seja iniciada pela infecção genital por *C. trachomatis*. Embora clamídias não tenham sido isoladas do fluido sinovial desses pacientes, corpúsculos elementares de clamídias foram observados nas amostras de tecido ou de fluido sinovial de homens com artrite sexualmente adquirida. A doença normalmente ocorre em homens brancos jovens. Cerca de 50 a 65% dos pacientes com

síndrome de Reiter têm infecção genital por clamídia no início da artrite, e estudos sorológicos indicam que mais de 80% dos homens com síndrome de Reiter têm evidências de infecção por *C. trachomatis* precedente ou concomitante.

Linfogranuloma Venéreo

Depois de incubação de 1 a 4 semanas, uma lesão primária aparece no local de infecção (p. ex., pênis, uretra, glande, escroto, parede vaginal, cérvice, vulva) em pacientes com LGV. A lesão (uma pápula ou uma úlcera) é frequentemente negligenciada porque é pequena, indolor e cicatriza rapidamente. A ausência de dor diferencia essas úlceras daquelas observadas em infecções pelo vírus do herpes simples. O paciente pode apresentar febre, cefaleia e mialgia enquanto a lesão estiver presente.

O segundo estádio da infecção é marcado pelo inchaço e pela inflamação dos linfonodos que drenam a região do início da infecção. Os linfonodos inguinais são os mais comumente envolvidos, tornando-se **bubões** dolorosos flutuantes que aumentam gradualmente e podem se romper, formando fístulas de drenagem. Manifestações sistêmicas incluem febre, calafrios, anorexia, cefaleia, meningismo, mialgia e artralgia.

A **proctite** é comum em mulheres com LGV, resultante de disseminação linfática da cérvice ou da vagina. A proctite se desenvolve em homens após o sexo anal ou como o resultado de disseminação linfática da uretra. O LGV não tratado pode regredir nesse estádio ou então progredir para uma fase ulcerativa crônica, na qual úlceras genitais, fístulas, estreitamentos ou elefantíase genital se desenvolvem.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção por *C. trachomatis* pode ser diagnosticada: (1) com base nos resultados citológicos, sorológicos, ou das culturas; (2) por meio da detecção direta de antígenos em amostras clínicas; e (3) mediante o uso de testes baseados em ácidos nucleicos. A sensibilidade de cada método depende da população de pacientes examinados, do local de onde a amostra foi obtida, e da natureza da doença. Por exemplo, infecções sintomáticas são geralmente mais fáceis de diagnosticar do que infecções assintomáticas, pois mais clamídias estarão na amostra. A qualidade da amostra também é importante. Ainda que pareça óbvio, as amostras devem ser obtidas do local envolvido (p. ex., uretra, cérvice, reto, orofaringe, conjuntiva) e não de pus ou exsudato vaginal, nos quais relativamente menos organismos estarão presentes. As clamídias infectam células colunares ou escamocolunares; portanto, amostras endocervicais, e não vaginais, devem ser coletadas. Estima-se que um terço das amostras de pacientes com suspeita de infecção por clamídia, que são submetidas para estudo, seja impróprio.

Detecção de Antígenos

Duas abordagens generalistas têm sido utilizadas para se detectar antígenos clamidiais em amostras clínicas: a **coloração de imunofluorescência direta** com anticorpos monoclonais conjugados à fluoresceína (Fig. 35-4) e **ensaio imunoabsorvente ligado à enzima** (ELISA). Em ambos, os anticorpos usados são preparados contra a MOMP clamidial ou o LPS da parede celular. Já que os determinantes antigênicos do LPS podem ser compartilhados com outras bactérias, especialmente no caso de amostras fecais, testes que visem ao antígeno de LPS são menos específicos. A sensibilidade de cada método varia bastante, porém nenhum é considerado tão sensível quanto a cultura ou os testes baseados em ácidos nucleicos, particularmente quando se utilizam amostras uretrais de homens ou amostras de pacientes assintomáticos. Estas últimas representam um problema porque podem conter relativamente poucas clamídias.

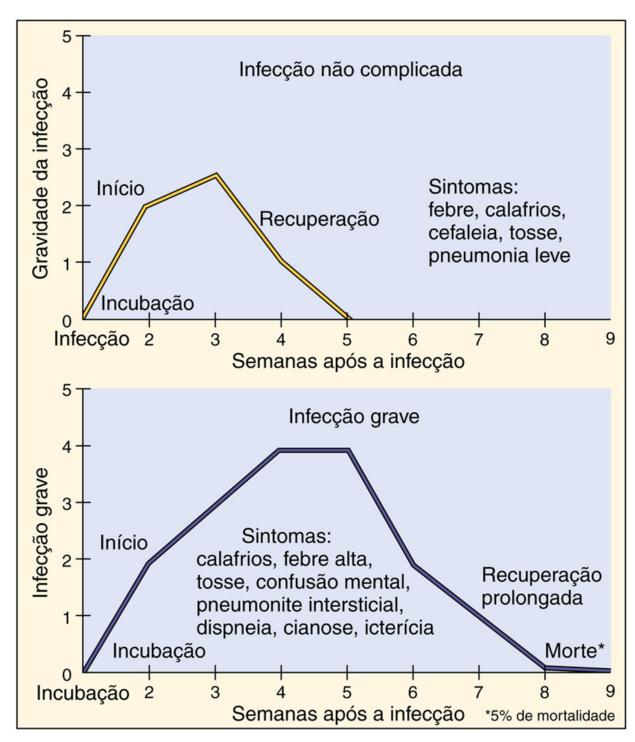


FIGURA 35-4 Duração da infecção por Chlamydophila psittaci.

Testes Baseados em Ácidos Nucleicos

Testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) são os testes de escolha para o diagnóstico de infecções por clamídia (geralmente relatadas 90 a 98% de sensibilidade e muito específicos). A urina de primeiro jato de um paciente com uretrite pode ser utilizada, assim como a secreção uretral. É preciso ter cuidado com a presença de inibidores (p. ex., urina) para a reação de amplificação, e com a prevenção da contaminação cruzada de amostras.

Cultura

O isolamento de *C. trachomatis* na cultura de células permanece como o método mais **específico** para o diagnóstico de infecções por *C. trachomatis*, mas é **relativamente insensível** quando comparado com a técnica NAAT. A bactéria infecta uma lista restrita de linhagens de células *in vitro*, assim como a pequena lista de células que elas infectam *in vivo*. A sensibilidade da cultura é comprometida se amostras inadequadas forem utilizadas e se a viabilidade clamidial se perdeu ao longo do transporte da amostra. Estima-se que a sensibilidade dos resultados gerados por uma única amostra endocervical seja de apenas 70 a 85%.

Testes sorológicos são de utilidade limitada para o diagnóstico de infecções urogenitais por *C. trachomatis* em adultos porque eles não podem diferenciar infecções atuais de passadas. A demonstração de um aumento significativo nos níveis de anticorpos pode ser útil; no entanto, esse aumento pode não ser demonstrado por 1 mês, ou até mais, especialmente em pacientes que receberam tratamento com antibióticos. Testes para anticorpos de imunoglobulina (Ig)M também não costumam ser úteis porque esses anticorpos podem não ser detectados em adolescentes e adultos. Exceção é a detecção de anticorpos IgM em bebês com pneumonite por clamídia.

Testes de anticorpos para o diagnóstico de LGV podem ser úteis. Pacientes infectados produzem uma resposta vigorosa de anticorpos que pode ser detectada por fixação de complemento, microimunofluorescência (MIF), ou imunoensaio enzimático (EIA) O teste de fixação de complemento é direcionado para o antígeno LPS gênero-específico. Assim, resultado positivo (i.e., aumento de quatro vezes na titulação ou uma única titulação ≥1:256) é altamente sugestivo de LGV. A confirmação é determinada pelo teste MIF, que é direcionado contra antígenos espécie e sorovar-específicos (as MOMP das clamídias). De modo similar ao teste CF, o EIA é gênero-específico. A vantagem do uso desses testes é que eles são tecnicamente menos complicados; contudo, os resultados devem ser confirmados por MIF.

Tratamento, Prevenção e Controle

Recomenda-se que pacientes com LGV sejam tratados com doxiciclina por 21 dias. O tratamento com eritromicina é recomendado para crianças com menos de 9 anos, mulheres grávidas e pacientes intolerantes à doxiciclina. Infecções oculares e genitais em adultos devem ser tratadas com uma dose de azitromicina ou doxiciclina por 7 dias. Recém-nascidos com conjuntivite ou pneumonia devem ser tratados com eritromicina por 10 a 14 dias.

É difícil de prevenir o tracoma porque a população com a doença endêmica normalmente tem acesso limitado a cuidado médico. A cegueira associada a estádios avançados da doença pode ser prevenida apenas com o tratamento imediato nos estádios iniciais e com a prevenção da reexposição. Ainda que o tratamento possa ser bem-sucedido em indivíduos vivendo em áreas em que a doença é endêmica, é difícil de erradicar a doença dentro de uma população e prevenir reinfecções sem melhora das condições sanitárias. Conjuntivite por *Chlamydia* e infecções genitais são prevenidas com práticas de sexo seguro e tratamento imediato dos pacientes sintomáticos e de seus parceiros sexuais.

Chlamydophila pneumoniae

C. pneumoniae foi isolada, pela primeira vez, da conjuntiva de uma criança em Taiwan. Ela foi inicialmente considerada uma cepa de psitacose porque a morfologia das inclusões produzidas na cultura de células era similar. No entanto, foi demonstrado subsequentemente que o isolado de Taiwan (TW-183) era relacionado sorologicamente com um isolado faríngeo, designado AR-39 e não tinha relação com cepas de psitacose. Esse novo organismo foi inicialmente chamado de TWAR (dos dois isolados originais) e, então, classificado como Chlamydia pneumoniae, e, finalmente, colocado no gênero novo Chlamydophila. Somente um sorotipo (TWAR) foi identificado. Secreções respiratórias transmitem a infecção; nenhum reservatório animal foi encontrado.

C. pneumoniae é um **patógeno humano** que causa sinusite, faringite, bronquite e pneumonia. Acredita-se que as infecções sejam transmitidas de pessoa a pessoa por meio de secreções respiratórias. A prevalência de infecções é muito controversa, com amplas variações relatadas na literatura, em grande parte por causa da variação significativa nos métodos de teste para diagnóstico. Também se acredita que a maior parte das infecções por C. pneumoniae é assintomática ou leve, causando tosse persistente e mal-estar; a maioria dos pacientes não requer hospitalização. Infecções mais graves do trato respiratório normalmente envolvem um único lobo pulmonar. Essas infecções não podem ser diferenciadas de outras pneumonias atípicas, como as provocadas por Mycoplasma pneumoniae, Legionella pneumophila e vírus respiratórios.

O papel de *C. pneumoniae* na patogênese da aterosclerose ainda precisa ser definido. Sabe-se que *C. pneumoniae* pode infectar e crescer em células musculares lisas, células endoteliais da artéria coronária e macrófagos. O organismo também foi encontrado em amostras de biópsia de lesões ateroscleróticas por meio de cultura, amplificação por reação em cadeia da polimerase, coloração imuno-histológica, microscopia eletrônica e hibridização *in situ*. Assim, a associação de *C. pneumoniae* com lesões ateroscleróticas é evidente. O que não está claro é o papel desempenhado pelo organismo no desenvolvimento da aterosclerose. Foi proposto que a doença resulta de resposta inflamatória a infecções crônicas; entretanto, isto ainda precisa ser provado.

O diagnóstico de infecções por *C. pneumoniae* é difícil. O organismo não cresce nas linhagens de células utilizadas para o isolamento de *C. trachomatis* e embora *C. pneumoniae* cresça na linhagem HEp-2, essa linhagem de células não é utilizada na maioria dos laboratórios clínicos. A detecção de *C. pneumoniae* por NAAT tem sido bem-sucedida; porém, variações interlaboratoriais significativas foram relatadas por laboratórios com experiência no uso desses ensaios. O teste de MIF é o único aceitável para sorodiagnóstico. O critério para diagnóstico de infecção aguda por *C. pneumoniae* é uma única titulação de IgM maior que 16 ou aumento de quatro vezes na titulação de IgG. Uma única titulação elevada de IgG não pode ser utilizada. Já que anticorpos IgG não aparecem por 6 a 8 semanas após a infecção, testes sorológicos são de valor limitado para o diagnóstico da infecção aguda.

Macrolídeos (eritromicina, azitromicina, claritromicina), doxiciclina ou levofloxacina são recomendados para o tratamento de infecções por *C. pneumoniae*, embora evidências que sustentem seu uso sejam limitadas. O controle da exposição a *C. pneumoniae* é possivelmente difícil porque a bactéria é ubíqua.

Chlamydophila psittaci (Caso Clínico 35-3)

C. psittaci é a causa da psitacose (febre do papagaio), que pode ser transmitida para humanos. A doença foi observada pela primeira vez em papagaios, e assim surgiu o nome psitacose (psittakos é a palavra grega para "papagaio"). Na realidade, entretanto, o reservatório natural de C. psittaci é virtualmente qualquer espécie de ave e a doença tem sido citada mais apropriadamente como ornitose (derivada da palavra grega ornithos, que significa "ave"). Outros animais, tais como ovelhas, vacas e cabras, assim como humanos, podem ser infectados. O organismo está presente no sangue, nos tecidos, nas fezes e nas penas de aves infectadas que podem parecer doentes ou saudáveis.



Caso Clínico 35-3 Psitacose em um Homem Previamente Saudável

Scully e colaboradores (*N Engl J Med* 338:1527-1535, 1998) descreveram um homem de 24 anos que foi admitido em um hospital local com angústia respiratória aguda. Vários dias antes da sua hospitalização, ele desenvolveu congestão nasal, mialgia, tosse seca, dispneia leve e cefaleia. Imediatamente antes da admissão, a tosse tornou-se produtiva e ele desenvolveu dor pleurítica, febre, calafrios e diarreia. Radiografias demonstraram consolidação do lobo superior direito dos pulmões e infiltrado macular no lobo inferior esquerdo. Apesar de seu tratamento incluir eritromicina, doxiciclina, ceftriaxona e vancomicina, seu estado pulmonar não começou a melhorar em 7 dias, e ele não recebeu alta do hospital até 1 mês após sua admissão. A história cuidadosa revelou que o homem foi exposto a papagaios em um saguão de hotel durante suas férias. O diagnóstico de pneumonia por *Chlamydophila psittaci* foi feito por meio do crescimento do organismo em cultura de células e por testes sorológicos.

A infecção ocorre pelo trato respiratório. Após a infecção, a bactéria se dissemina para as células reticuloendoteliais do fígado e do baço. O organismo se multiplica nesses locais, produzindo necrose focal. O pulmão e outros órgãos são, então, semeados como resultado da disseminação hematogênea, que causa resposta inflamatória predominantemente linfocítica nos espaços intersticiais e alveolares. Edema, espessamento da parede alveolar, infiltração por macrófagos, necrose e, ocasionalmente, hemorragia acontecem nesses locais. Tampões de muco se desenvolvem nos bronquíolos, causando cianose e anoxia.

Menos de 25 casos dessa doença são relatados anualmente nos Estados Unidos, com a maioria das infecções em adultos. Esse número é certamente uma subestimativa da verdadeira prevalência da doença, já que: (1) infecções em humanos podem ser leves ou assintomáticas; (2) pode não se suspeitar de exposição a uma ave infectada; (3) o soro convalescente pode não ser coletado para confirmar o diagnóstico clínico; e (4) a antibioticoterapia pode bloquear a resposta dos anticorpos. Além disso, em decorrência das reações cruzadas sorológicas com *C. pneumoniae*, estimativas específicas da prevalência da doença permanecerão pouco confiáveis até que um teste definitivo de diagnóstico seja desenvolvido.

A bactéria normalmente é transmitida para humanos por inalação de excremento seco, urina ou secreções respiratórias de aves psitacídeas (p. ex., papagaios, periquitos, araras, cacatuas). A transmissão de pessoa a pessoa é rara. Veterinários, cuidadores de zoológico, trabalhadores em lojas de animais domésticos e empregados de fábricas de processamento de carne de aves estão em maior risco para essa infecção.

A doença se desenvolve depois de incubação de 5 a 14 dias e normalmente se manifesta como cefaleia, febre alta, calafrio, mal-estar e mialgia (Fig. 35-4). Sinais pulmonares incluem tosse não produtiva, estertores e consolidação. É comum o envolvimento do sistema nervoso central, normalmente consistindo em cefaleia, mas encefalite, convulsões, coma e morte podem ocorrer em casos mais graves não tratados. Pacientes podem sofrer sintomas gastrointestinais, como náusea, vômito e diarreia. Outros sintomas sistêmicos incluem cardites, hepatomegalia, esplenomegalia e ceratoconjuntivite folicular.

A psitacose é normalmente diagnosticada com base nos resultados sorológicos. Aumento de quatro vezes na titulação, mostrado por testes de fixação de complemento com soros pareados das fases aguda e convalescente, é sugestivo de infecção por *C. psittaci*, mas o teste MIF espécie-específico deve ser realizado para confirmar o diagnóstico. *C. psittaci* pode ser isolado em culturas de células (p. ex., com células L) depois de 5 a 10 dias de incubação, embora esse procedimento raramente seja realizado em laboratórios clínicos.

As infecções podem ser tratadas, com sucesso, utilizando-se doxiciclina ou macrolídeos. A transmissão de pessoa a pessoa raramente ocorre, então o isolamento do paciente e o tratamento profilático dos contatos não são necessários. A psitacose pode ser prevenida somente com o controle das infecções em aves de estimação domésticas e importadas. Tal controle pode ser obtido por meio do tratamento das aves com hidrocloreto de clortetraciclina por 45 dias. Atualmente, não existe uma vacina para essa doença.

Referências Bibliográficas

Arcari CM, Gaydos CA, Nieto FJ, et al. Association between *Chlamydia pneumoniae* and acute myocardial infarction in young men in the United States military: the importance of timing of exposure measurement. *Clin Infect Dis.* 2005;40:1123–1130.

Bebear C, de Barbeyrac B. Genital Chlamydia trachomatis infections. Clin Microbiol Infect. 2009;15:4-10.

Beeckman D, Vanrompay D. Zoonotic Chlamydophila psittaci infections from a clinical perspective. Clin Microbiol Infect. 2009;15:11–17.

Byrne G. Chlamydia trachomatis strains and virulence: rethinking links to infection prevalence and disease severity. J Infect Dis. 2010;201:S126–S133.

- Centers. for Disease Control and Prevention: Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*—2014. *MMWR Recomm Rep.* 2014;63(RR–02):1–19.
- Gambhir M, Basáñez MG, Turner F, et al. Trachoma: transmission, infection, and control. Lancet Infect Dis. 2007;7:420-427.
- Kern J, Maass V, Maass M. Molecular pathogenesis of chronic *Chlamydia pneumoniae* infections: a brief overview. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15:36–41.
- Kumar S, Hammerschlag M. Acute respiratory infection due to *Chlamydia pneumoniae*: current status of diagnostic methods. *Clin Infect Dis*. 2007;44:568–576.
- Liechti GW, Kuru E, Hall E, et al. A new metabolic cell-wall labeling method reveals peptidoglycan in *Chlamydia trachomatis*. *Nature*. 2014;506:507–510.
- Morré SA, Rozendaal L, van Valkengoed IG, et al. Urogenital Chlamydia trachomatis serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestations?. *J Clin Microbiol*. 2000;38:2292–2296.
- Nunes A, Gomes J. Evolution, phylogeny, and molecular epidemiology of Chlamydia. Infect Genet Evol. 2014;23:49-64.
- Van der Bij AK, Spaargaren J, Morré SA, et al. Diagnostic and clinical implications of anorectal lymphogranuloma venereum in men who have sex with men: a retrospective case-control study. *Clin Infect Dis.* 2006;42:186–194.
- Vasilevsky S, Greub G, Nardelli-Haefliger D, et al. Genital *Chlamydia trachomatis*: understanding the roles of innate and adaptive immunity in vaccine research. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:346–370.

SEÇÃO 5

Virologia

Capítulo 56: Doenças Causadas por Príons

Capítulo 36: Classificação, Estrutura e Replicação dos Vírus	
Capítulo 37: Mecanismos da Patogênese Viral	
Capítulo 38: O Papel dos Vírus nas Doenças	
Capítulo 39: Diagnóstico Laboratorial de Doenças Virais	
Capítulo 40: Agentes Antivirais e Controle de Infecção	
Capítulo 41: Papilomavírus e Poliomavírus	
Capítulo 42: Adenovírus	
Capítulo 43: Herpes-vírus Humanos	
Capítulo 44: Poxvírus	
Capítulo 45: Parvovírus	
Capítulo 46: Picornavírus	
Capítulo 47: Coronavírus e Norovírus	
Capítulo 48: Paramixovírus	
Capítulo 49: Ortomixovírus	
Capítulo 50: Rabdovírus, Filovírus e Bornavírus	
Capítulo 51: Reovírus	
Capítulo 52: Togavírus e Flavivírus	
Capítulo 53: Bunyaviridae e Arenaviridae	
Capítulo 54: Retrovírus	
Capítulo 55: Vírus da Hepatite	

Classificação, Estrutura e Replicação dos Vírus

Os vírus foram primeiramente descritos como "agentes filtráveis". Seu pequeno tamanho permite-lhes passar através de filtros projetados para reter bactérias. Diferentemente da maioria das bactérias, dos fungos e dos parasitas, **os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios**, que dependem do maquinário bioquímico da célula do hospedeiro para a sua replicação. Além disso, *a reprodução dos vírus ocorre pela montagem dos componentes individuais, em vez de fissão binária* (Quadros 36-1 e 36-2).



Quadro 36-1 Definição e Propriedades de um Vírus

Vírus são agentes filtrantes.

Vírus são parasitas intracelulares obrigatórios.

Vírus não podem produzir energia ou proteínas independentemente da célula hospedeira.

Os genomas virais podem ser de RNA ou de DNA, mas não de ambos.

Os vírus têm uma morfologia de capsídeo descoberto ou de envelope.

Os componentes virais são montados e não se replicam por "divisão".



Quadro 36-2 Consequências das Propriedades Virais

Os vírus não são vivos.

Os vírus devem ser infecciosos para permanecer na natureza.

Os vírus devem ser capazes de usar os processos da célula do hospedeiro para produzirem seus componentes (RNA mensageiro viral, proteína e cópias idênticas do genoma).

Os vírus devem codificar qualquer processo necessário não provido pela célula.

Os componentes virais devem montar a si próprios.

Os vírus mais simples consistem em um genoma de ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA) empacotado em um envoltório protetor de proteína e, em alguns vírus, em uma membrana (Fig. 36-1). Aos vírus, falta a capacidade de gerar energia ou substratos e de fazer suas próprias proteínas, além de não terem a capacidade de replicar seu genoma independentemente da célula do hospedeiro. Para usar o maquinário biossintético da célula, os vírus devem adaptar-se às regras bioquímicas dela.

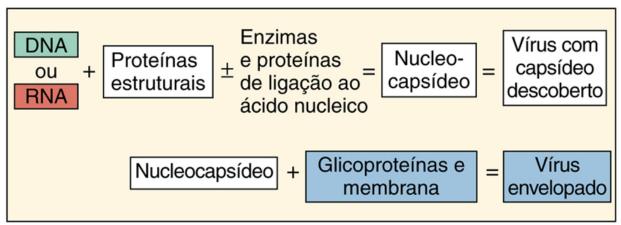


FIGURA 36-1 Componentes do vírion básico.

A estrutura física e genética dos vírus foi otimizada por mutação e seleção para infectar os seres humanos e outros hospedeiros. Para fazer isso, os vírus devem ser capazes de se transmitir entre hospedeiros, atravessar a pele ou outras barreiras protetoras do hospedeiro, estar adaptados ao maquinário bioquímico da célula do hospedeiro para a sua replicação e escapar da eliminação por parte da resposta imune do hospedeiro.

O conhecimento das características estruturais (**tamanho e morfologia**) e genéticas (**tipo e estrutura do ácido nucleico**) de um vírus fornece compreensão de como ele se replica, dissemina e causa doenças. Os conceitos apresentados neste capítulo são repetidos em mais detalhes nas discussões dos vírus específicos em capítulos posteriores.

Classificação

Os vírus variam de pequenos e estruturalmente simples, como os parvovírus e os picornavírus, até os grandes e complexos, como os poxvírus e os herpes-vírus. Seus nomes podem descrever características virais, as doenças às quais estão associados ou até mesmo o tecido ou a localização geográfica onde eles foram primeiramente identificados. Nomes como **picornavírus** (*pico*, "pequeno"; *rna*, "ácido ribonucleico") ou **togavírus** (*toga*, palavra grega para "manto", referindo-se a um envelope de membrana envolvendo o vírus) descrevem a estrutura do vírus. O nome **retrovírus** (*retro*, "reverso") refere-se à síntese do DNA dirigida pelo vírus a partir de um molde de RNA, enquanto os *poxvírus* são nomeados a partir do nome da doença *smallpox* (varíola), causada por um de seus membros. Os **adenovírus** (*adeno*ides) e os **reovírus** (*re*spiratório, *e*ntérico, órfão) são denominados pela parte do corpo da qual foram isolados pela primeira vez. O reovírus foi descoberto antes de ser associado com uma doença específica, tendo sido então designado como um vírus "órfão". O vírus Norwalk leva o nome de Norwalk, Ohio; coxsackievírus leva o nome de Coxsackie, Nova York; e muitos dos togavírus, arenavírus e buniavírus são denominados em razão dos lugares na África onde foram isolados pela primeira vez.

Os vírus podem ser agrupados por características, como doença (p. ex., hepatite), tecido-alvo, meio de transmissão (p. ex., entérico, respiratório) ou vetor (p. ex., arbovírus; vírus transportado por antrópode) (Quadro 36-3). A forma mais consistente e atual de classificação é pelas características físicas e bioquímicas, como tamanho, morfologia (p.ex., presença ou ausência de um envelope de membrana), tipo de genoma e meios de replicação (Figs. 36-2 e 36-3). Os vírus de DNA associados com doenças humanas são divididos em sete famílias (Tabelas 36-1 e 36-2). Os vírus de RNA podem ser divididos em pelo menos 13 famílias (Tabelas 36-3 e 36-4).



Quadro 36-3 Formas de Classificação e Denominação dos Vírus

Estrutura: tamanho, morfologia e ácido nucleico (p. ex., picornavírus [pequeno RNA], togavírus)

Características bioquímicas: estrutura e modo de replicação*

Doença: vírus da encefalite e da hepatite, por exemplo

Meios de transmissão: o arbovírus é disseminado por insetos, por exemplo

Célula hospedeira (espectro de hospedeiros): animal (homem, camundongo, pássaro), planta, bactéria

Tecido ou órgão (tropismo): adenovírus e enterovírus, por exemplo

^{*} Essa é a forma atual de classificação taxonômica dos vírus.

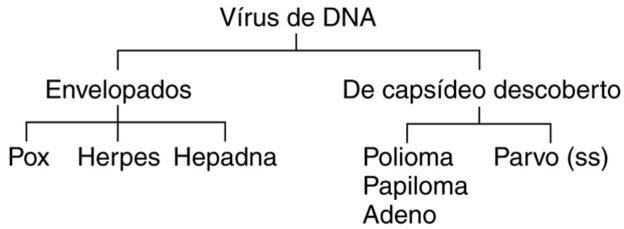


FIGURA 36-2 Vírus de DNA e sua morfologia. As famílias virais são determinadas pela estrutura do genoma e pela morfologia do vírion. ss, genoma de cadeia simples.

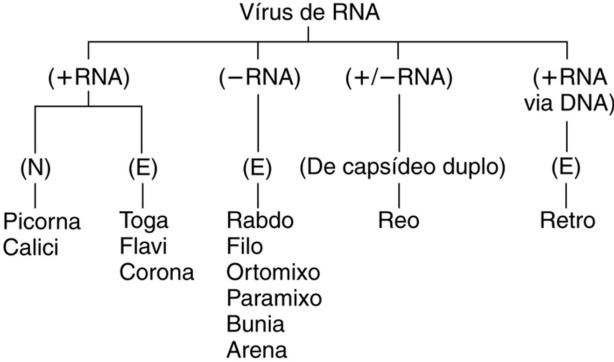


FIGURA 36-3 Vírus de RNA, sua estrutura de genoma e sua morfologia. As famílias virais são determinadas pela estrutura do genoma e pela morfologia do vírion. *E*, envelopado; *N*, de capsídeo descoberto (*naked*).



Tabela 36-1

Famílias de Vírus de DNA e Alguns Membros Importantes

Família*	Membros [†]
POXVIRIDAE	Vírus da varíola, vírus vacínia, vírus da varíola do macaco, varíola do canário, molusco contagioso
Herpesviridae	<i>Vírus do herpes simples dos tipos 1 e 2</i> , vírus varicela-zóster, vírus Epstein-Barr, citomegalovírus, herpes-vírus humano 6, 7 e 8
Adenoviridae	Adenovírus
Papillomaviridae	Papilomavírus
Polyomaviridae	Vírus JC, vírus BK, SV40
Parvoviridae	Parvovírus B19, vírus adenoassociados
Hepadnaviridae	Vírus da hepatite B

^{*} O tamanho da letra é indicativo do tamanho relativo do vírus.

[†] O vírus em itálico é o vírus protótipo para a família.



Propriedades dos Vírions dos Vírus de DNA Humanos

Genoma*		Vírion			
Família	Massa Molecular × 10 ⁶ Dáltons	Natureza	Formato	Tamanho (nm)	Codifica Polimerase? [†]
Poxviridae	85-140	df, linear	Formato de tijolo, envelopado	300 × 240 × 100	+‡1
Herpesviridae	100-150	df, linear	Icosadeltaédrico, envelopado	Capsídeo, 100- 110 Envelope, 120- 200	+
Adenoviridae	20-25	df, linear	Icosadeltaédrico com fibras	70-90	+
Hepadnaviridae	1,8	df, circular§	Esférico, envelopado	42	+‡¶
Poliomaviridae e papiloma viridae	3-5	df, circular	Icosadeltaédrico	45-55	_
Parvoviridae	1,5-2,0	fs, linear	Icosaédrico	18-26	-

df, dupla fita; fs, fita simples.

- † DNA polimerase dependente de DNA (a menos que indicado de outra forma).
- [‡] Polimerase carregada no vírion.
- § A molécula circular é de dupla fita para a maior parte do seu comprimento, mas contém uma região de fita simples.
- Poxvírus também codificam uma RNA polimerase dependente de DNA.
- ¶ RNA polimerase dependente de DNA (transcriptase reversa).



Tabela 36-3

Famílias de Vírus de RNA e Alguns Membros Importantes

Família*	Membros [†]	
PARAMYXOVIRIDAE	Vírus parainfluenza, vírus Sendai, <i>vírus do sarampo</i> , vírus da caxumba, vírus sincicial respiratório, metapneumovírus	
ORTOMYXOVIRIDAE	Vírus da influenza tipos A, B, C e togotovírus	
CORONAVIRIDAE	Coronavírus, vírus da síndrome respiratória aguda severa (SARS), vírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS)	
Arenaviridae	Vírus da febre de Lassa, complexo de vírus Tacaribe (vírus Junino e Machupo), vírus da coriomeningite linfocítica	
Rhabdoviridae	Vírus da raiva, vírus da estomatite vesicular	
Filoviridae	Vírus Ebola, vírus Marburg	
Bunyaviridae	Vírus da encefalite da Califórnia, vírus La Crosse, vírus da febre do mosquito-pólvora, vírus da febre hemorrágica, hantavírus	
Retroviridae	Vírus da leucemia de células T humana dos tipos I e II, vírus da imunodeficiência humana, oncovírus de animais	
Reoviridae	Rotavírus, vírus da febre do carrapato do Colorado	
Togaviridae	Vírus da rubéola, vírus da encefalite equina do oeste, do leste e venezuelana; vírus do rio Ross; vírus Sindbis; vírus da floresta Semliki; vírus chikungunya	
Flaviviridae	Vírus da febre amarela, vírus da dengue, vírus da encefalite de St. Louis, vírus do oeste do Nilo, vírus da hepatite C	
Caliciviridae	Vírus Norwalk, calicivírus	
Picornaviridae	Rinovírus, poliovírus, ecovírus, coxsackievírus, vírus da hepatite A	
Delta	Agente delta	

^{*} O tamanho da letra é indicativo do tamanho relativo do vírus.

^{*} O genoma é invariavelmente uma única molécula.

[†] O vírus em itálico é o vírus protótipo para a família.



Propriedades dos Vírions dos Vírus de RNA Humanos

	Genoma*		Vírion			
Família	Massa Molecular × 10 ⁶ Dáltons	Natureza	Formato*	Tamanho (nm)	Polimerase no Vírion	Envelope
Paramyxoviridae	5-7	fs, -	Esférico	150-300	+	+
Orthomyxoviridae	5-7	fs, -, seg	Esférico	80-120	+	+
Coronaviridae	6-7	fs, +	Esférico	80-130	-	+†
Arenaviridae	3-5	fs, -, seg	Esférico	50-300	+	+†
Rhabdoviridae	4-7	fs, -	Formato de bala de arma de fogo	180 × 75	+	+
Filoviridae	4-7	fs, -	Filamentoso	800 × 80	+	+
Bunyaviridae	4-7	fs, -	Esférico	90-100	+	+†
Retroviridae	2 × (2-3) [‡]	fs, +	Esférico	80-110	+§	+
Reoviridae	11-15	df, seg	Icosaédrico	60-80	+	_
Picornaviridae	2,5	fs, +	Icosaédrico	25-30	_	_
Togaviridae	4-5	fs, +	Icosaédrico	60-70	_	+
Flaviviridae	4-7	fs, +	Esférico	40-50	_	+
Caliciviridae	2,6	fs, +	Icosaédrico	35-40	_	-

df, dupla-fita; seg, segmentado; fs, fita simples; + ou -, polaridade do ácido nucleico de fita simples.

Estrutura do Vírion

As unidades de medição para o tamanho de um vírion são os nanômetros (nm). Os vírus clinicamente importantes variam de 18 nm (parvovírus) a 300 nm (poxvírus) (Fig. 36-4). Estes últimos são quase visíveis ao microscópio óptico e têm aproximadamente um quarto do tamanho das bactérias estafilocócicas. Os vírions maiores podem abrigar um genoma maior, capaz de codificar mais proteínas, sendo eles geralmente mais complexos.

^{*} Alguns vírus envelopados são muito pleomórficos (algumas vezes filamentosos).

[†] Nenhuma proteína da matriz.

[‡] O genoma tem duas moléculas de RNA de fita simples idênticas.

[§] Transcriptase reversa.

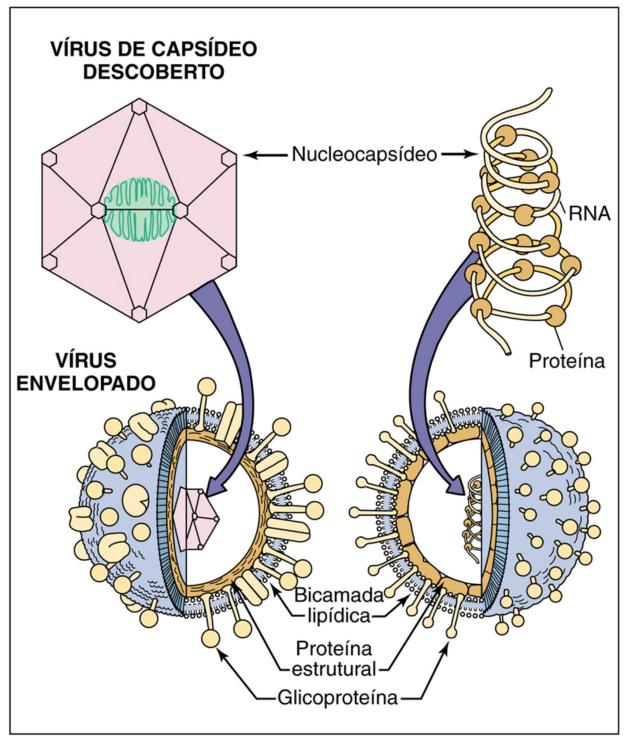


FIGURA 36-4 As estruturas de um vírus de capsídeo icosaédrico descoberto (acima, à esquerda) e dos vírus envelopados (abaixo) com um nucleocapsídeo icosaédrico (à esquerda) ou ribonucleocapsídeo helicoidal (à direita). Os nucleocapsídeos helicoidais são sempre envelopados nos vírus humanos.

O vírion (partícula do vírus) consiste em um **genoma** de ácido nucleico empacotado numa cobertura proteica (**capsídeo**) ou numa membrana (**envelope**) (Fig. 36-4). O vírion pode conter também certas enzimas essenciais ou acessórias ou outras proteínas para facilitar a replicação inicial na célula. As proteínas do capsídeo ou as proteínas de ligação do ácido nucleico podem associar-se com o genoma para formar um **nucleocapsídeo**, que pode ser o mesmo do vírion ou envolto por um envelope.

O genoma do vírus consiste em DNA ou RNA. O DNA pode ser de fita simples ou dupla, linear ou circular. O RNA pode ser de sentido positivo (+) (como o RNA mensageiro [RNAm]) ou negativo (-) (análogo a um negativo fotográfico), de dupla fita (+/-) ou de duplo sentido (contendo regiões + e - de RNA ligadas de extremidade a extremidade). O genoma do RNA pode também ser segmentado em pedaços, cada pedaço codificando um ou mais genes. Assim como há muitos tipos diferentes de dispositivos de memória para computadores, todas essas formas de ácido nucleico podem manter e transmitir a informação genética do vírus. Similarmente, quanto maior o genoma, mais informações (genes) ele pode carregar e tanto maior será o capsídeo ou a estrutura de envelope requerida para conter o genoma.

A camada externa do vírion é o **capsídeo** ou **envelope**. Essas estruturas são o pacote, a proteção e o veículo de liberação durante a transmissão do vírus de um hospedeiro para outro e para a dispersão para a célula-alvo dentro do hospedeiro. As

estruturas da superfície do capsídeo e do envelope medeiam a interação do vírus com a célula-alvo por meio de uma **proteína de fixação viral** (VAP) ou estrutura. *A remoção ou o rompimento da parte externa deste pacote inativa o vírus. Os anticorpos gerados contra VAP impedem a infecção viral*. A influência da estrutura do vírion nas propriedades virais está resumida nos Quadros 36-4 e 36-5.



Quadro 36-4 Estrutura do Vírion: Capsídeo Descoberto

Componente

Proteína

Propriedades*

É ambientalmente estável para o seguinte:

Temperatura

Ácido

Proteases

Detergentes

Ressecamento

É liberado da célula por lise

Consequências*

Pode ser disseminado facilmente (em fômites, de mão para mão, pela poeira, por pequenas gotas)

Pode ressecar e reter a infectividade

Pode sobreviver às condições adversas do intestino

Pode ser resistente a detergentes e a um tratamento pobre de esgoto

Anticorpo pode ser suficiente para a imunoproteção

^{*} Existem exceções.



Quadro 36-5 Estrutura do Vírion: Envelope

Componentes

Membrana

Lipídios

Proteínas

Glicoproteínas

Propriedades*

É ambientalmente instável — é rompido pelo seguinte:

Ácido

Detergentes

Ressecamento

Calor

Modifica a membrana da célula durante a replicação

É liberado por brotamento e pela lise celular

Consequências*

Deve permanecer "úmido"

Não pode sobreviver ao trato gastrointestinal

Dissemina-se em grandes gotas, secreções, transplantes de órgãos e transfusões de sangue

Não precisa matar a célula para se disseminar

Pode necessitar de anticorpo e resposta imune mediada por células para proteção e controle

Desencadeia hipersensibilidade e inflamação para causar imunopatogênese

O capsídeo é uma estrutura rígida capaz de resistir a severas condições ambientais. Como uma bola de futebol, os vírus de capsídeo nus também têm um exterior forte e são geralmente resistentes a secagem, ácido e detergentes, incluindo o

^{*} Existem exceções.

ácido e a bile do trato entérico. Muitos desses vírus são transmitidos pela rota fecal-oral e podem preservar a capacidade de transmissão mesmo no esgoto.

O **envelope** é uma membrana composta de lipídios, proteínas e glicoproteínas. A estrutura membranosa do envelope pode ser mantida apenas em soluções aquosas. É prontamente rompida por ressecamento, condições ácidas, detergentes e solventes, como o éter, o que resulta na inativação do vírus. *Como consequência, vírus envelopados devem permanecer úmidos e são geralmente transmitidos em fluidos, perdigotos, sangue e tecidos.* A maioria não pode sobreviver às condições severas do trato gastrointestinal.

Vírus com Capsídeo

O capsídeo viral é montado a partir de proteínas individuais associadas em unidades progressivamente maiores. Todos os componentes do capsídeo têm características químicas que os permitem encaixar-se e montar-se em uma unidade maior. Proteínas estruturais individuais associam-se em **subunidades**, as quais se associam em **protômeros**, **capsômeros** (distinguíveis em eletromicrografias) e, finalmente, um **procapsídeo** ou **capsídeo** reconhecível (Fig. 36-5). Um procapsídeo requer processamento subsequente para tornar-se o capsídeo final e transmissível. Para alguns vírus, o capsídeo forma-se em torno do genoma; para outros, o capsídeo forma-se como uma capa vazia (procapsídeo) para ser preenchido pelo genoma.

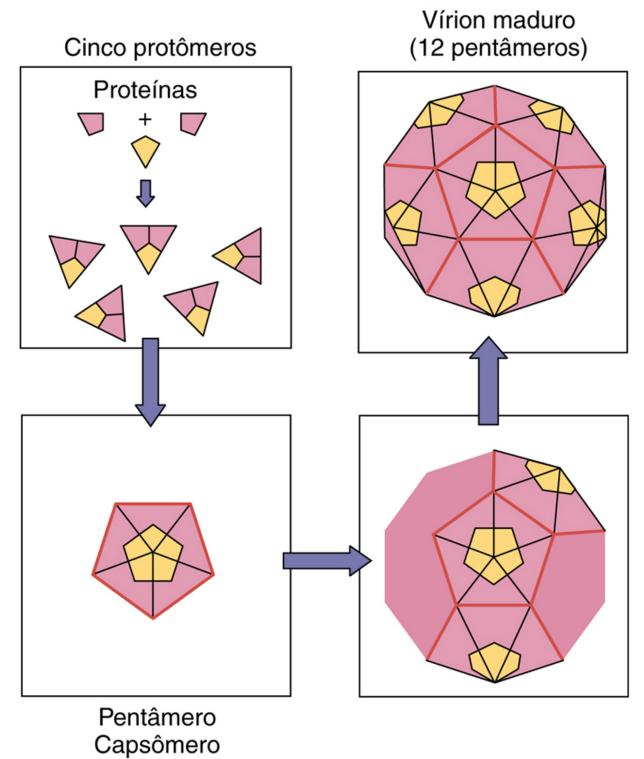


FIGURA 36-5 Montagem do capsídeo icosaédrico de um picornavírus. Proteínas individuais associam-se em subunidades, as quais se associam em protômeros, capsômeros e num procapsídeo vazio. A inclusão do genoma RNA (+) dispara a sua conversão para a forma final de capsídeo.

As estruturas virais mais simples que podem ser construídas passo a passo são simétricas e incluem estruturas **helicoidais** e **icosaédricas**. As estruturas helicoidais aparecem como bastões, enquanto o icosaedro é uma aproximação de uma esfera montada a partir de subunidades simétricas (Fig. 36-6). Os capsídeos assimétricos são formas complexas e estão associados a certos vírus bacterianos (fagos).

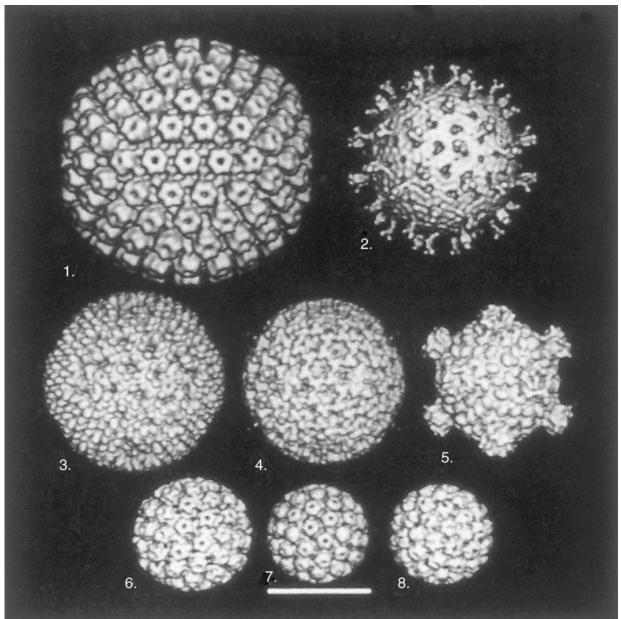


FIGURA 36-6 Microscopia crioeletrônica e reconstruções de imagens tridimensionais de vários capsídeos icosaédricos geradas por computador. Estas imagens mostram a simetria dos capsídeos e dos capsômeros individuais. Durante a montagem, o genoma pode preencher o capsídeo através dos furos nos capsômeros dos herpes-vírus, poliomavírus e papilomavírus. 1, nucleocapsídeo do herpes-vírus equino; 2, rotavírus dos símios; 3, vírion de reovírus tipo 1 (Lang); 4, partícula subviral intermediária (reovírus); 5, partícula cerne (capsídeo interno) (reovírus); 6, papilomavírus humano do tipo 19; 7, poliomavírus do camundongo; 8, vírus em mosaico da couve-flor. Barra = 50 nm. (Cortesia de Dr. Tim Baker, Purdue University, West Lafayette, Ind.)

O exemplo clássico de um vírus com simetria helicoidal é o do mosaico da planta do tabaco. Seus capsômeros se automontam no genoma de RNA em bastões que se estendem pelo comprimento do genoma. Os capsômeros cobrem e protegem o RNA. Os nucleocapsídeos helicoidais são observados dentro do envelope da maioria dos vírus de RNA de fita negativa (Fig. 48-1).

Simples **icosaedros** são utilizados por vírus pequenos, como os picornavírus e os parvovírus. O icosaedro é feito de 12 capsômeros com simetria de cinco lados cada um (**pentâmero** ou **penton**). Nos picornavírus, todo pentâmero é feito de cinco protômeros, cada um composto por três subunidades de quatro proteínas separadas (Fig. 36-5). A cristalografia por raios X e a análise da imagem da microscopia crioeletrônica definiram a estrutura do capsídeo do picornavírus em nível molecular. Esses estudos retrataram uma fenda parecida com um cânion, que é um "ponto de ancoragem" para ligar ao receptor na superfície da célula-alvo (Fig. 46-2).

Os vírions com capsídeos maiores são construídos inserindo-se capsômeros estruturalmente distintos entre os pentons nos vértices. Esses capsômeros têm seis vizinhos mais próximos (**héxons**). Isto aumenta o icosaedro e é chamado de **icosadeltaedro**, e seu tamanho é determinado pelo número de héxons inseridos ao longo das bordas e dentro das superfícies entre os pentons. As antigas bolas de futebol eram icosadeltaedros. Por exemplo, o nucleocapsídeo dos herpes-vírus tem 12 pentons e 150 héxons. O nucleocapsídeo dos herpes-vírus é também envolto por um envelope. O capsídeo do adenovírus é composto por 252 capsômeros, com 12 pentons e 240 héxons. Uma fibra longa é ligada a cada penton do adenovírus para servir como a VAP para ligar-se às células-alvo, e ela também contém o antígeno tipo-específico (Fig. 42-1). Os reovírus têm um duplo capsídeo icosaédrico com proteínas semelhantes a fibras parcialmente estendidas a partir de

cada vértice. O capsídeo externo protege o vírus e promove sua captação através do trato gastrointestinal e dentro das células-alvo, enquanto o capsídeo interno contém enzimas para a síntese do RNA (Figs. 36-6 e 51-2).

Vírus Envelopados

O envelope do vírion é composto de lipídios, proteínas e glicoproteínas (Fig. 36-4 e Quadro 36-5). Ele tem uma estrutura de membrana similar à das membranas celulares. As proteínas celulares são raramente encontradas no envelope viral, mesmo que este tenha sido obtido a partir de membranas celulares. A maioria dos vírus envelopados é redonda ou pleomórfica (veja Figs. 36-2 e 36-3 para a relação completa dos vírus envelopados). Duas exceções são os poxvírus, que possuem uma estrutura interna complexa e uma estrutura externa parecida com um tijolo, e o rabdovírus, que tem o formato de uma bala de arma de fogo.

A maioria das glicoproteínas virais tem carboidratos ligados à asparagina (*N*-ligados) e se estende através do envelope e para fora da superfície do vírion. Em muitos vírus, estes podem ser observados como espículas (Fig. 36-7). Algumas glicoproteínas agem como VAPs, capazes de se ligar a estruturas nas células-alvo. As VAPs, que também se ligam aos eritrócitos, são denominadas **hemaglutininas** (HAs). Algumas glicoproteínas têm outras funções, como a neuraminidase (NA) dos ortomixovírus (influenza) e os receptores Fc e C3b associados a glicoproteínas do vírus do herpes simples (HSV), ou as glicoproteínas de fusão dos paramixovírus. As glicoproteínas, especialmente as VAPs, também são importantes antígenos que desencadeiam imunidade protetora.

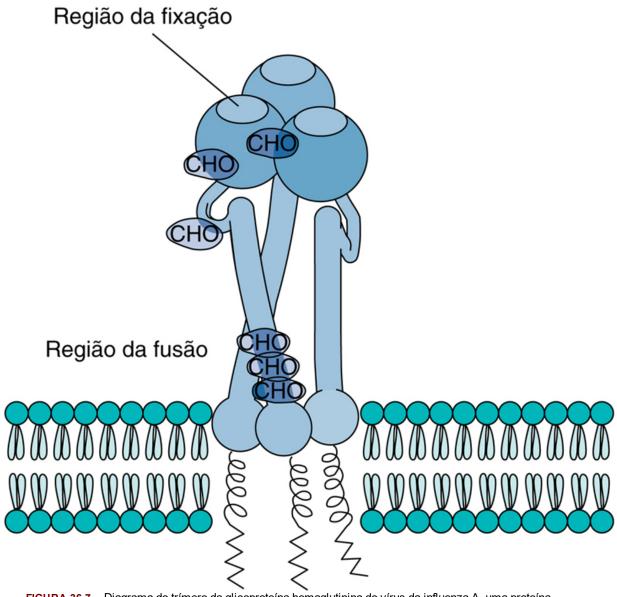


FIGURA 36-7 Diagrama do trímero da glicoproteína hemaglutinina do vírus da influenza A, uma proteína representativa de espícula. A região de adesão ao receptor celular é exposta na superfície da proteína da espícula. Sob condições moderadamente ácidas, a hemaglutinina se dobra para trazer juntos o envelope do vírion e a membrana celular, e expõe a sequência hidrofóbica para promover a fusão. CHO, pontos de fixação do carboidrato ligado ao N. (Modificado de Schlesinger MJ, Schlesinger S: Domains of virus glycoproteins, Adv Virus Res 33:1–44, 1987.)

O envelope dos togavírus envolve um nucleocapsídeo icosaédrico, contendo um genoma de RNA de fita positiva. O envelope contém espículas que consistem em duas ou três subunidades de glicoproteína ancoradas ao capsídeo icosaédrico

do vírion. Isto permite ao envelope aderir firmemente e moldar-se (encolhendo-se e embrulhando-se) a uma estrutura icosaédrica discernível por microscopia crioeletrônica.

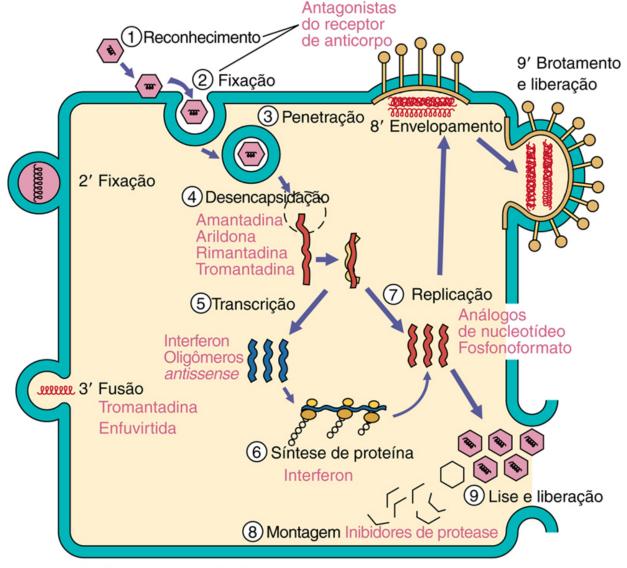
Todos os vírus de RNA de fita negativa são envelopados. Os componentes da RNA polimerase viral RNA-dependente associam-se com genoma de RNA (–) dos ortomixovírus, paramixovírus e rabdovírus para formar nucleocapsídeos helicoidais. Essas enzimas são requeridas para iniciar a replicação viral, e sua associação com o genoma garante sua liberação dentro da célula. As **proteínas da matriz**, que revestem o interior do envelope, facilitam a montagem do ribonucleocapsídeo dentro do vírion. O influenza A (ortomixovírus) é exemplo de um vírus de RNA (–) com genoma segmentado. Seu envelope é revestido com as proteínas da matriz e tem duas glicoproteínas: a HA, que é uma VAP, e uma NA (Fig. 49-1). Os buniavírus não têm proteínas de matriz.

O envelope do herpes-vírus é uma estrutura parecida com um saco que abriga o nucleocapsídeo icosadeltaédrico (Fig. 43-1). Dependendo do herpes-vírus específico, o envelope pode conter até 11 glicoproteínas. O espaço intersticial entre o nucleocapsídeo e o envelope é denominado **tegumento**, e contêm enzimas, outras proteínas e até RNA que facilita a infecção viral.

Os poxvírus são vírus envelopados grandes, complexos e com formatos parecidos com tijolos (Fig. 44-1). O envelope abriga uma estrutura nucleoide em forma de halter, contendo DNA, corpos laterais, fibrilas e muitas enzimas e proteínas, incluindo as enzimas e os fatores transcricionais necessários para a síntese do RNAm.

Replicação Viral

As principais etapas de replicação viral são as mesmas para todos os vírus (Fig. 36-8; Quadro 36-6). A célula age como uma fábrica, fornecendo os substratos, a energia e o maquinário necessários para a síntese de proteínas virais e para a replicação do genoma. Os processos não providos pelas células devem ser codificados no genoma do vírus. A maneira pela qual cada vírus cumpre essas etapas e supera as limitações bioquímicas da célula é distinta para diferentes estruturas do genoma e do vírion (seja ele envelopado ou tenha ele o capsídeo descoberto). Isto é ilustrado nos exemplos das Figuras 36-11 a 36-13 (ver a seguir).



Outros alvos importantes:

Biossíntese e mutação do nucleotídeo: ribavirina Timidina quinase (ativação da droga): aciclovir, penciclovir

Neuraminidase: zanamivir, oseltamivir

FIGURA 36-8 Esquema geral da replicação viral. Vírus envelopados também podem entrar pelas etapas 2' e 3', são montados e saem a partir da célula pelos passos 8' e 9'. As drogas antivirais para as etapas suscetíveis na replicação viral estão listadas em magenta.



Quadro 36-6 Etapas da Replicação Viral

- 1. Reconhecimento da célula-alvo
- 2. Fixação
- 3. Penetração
- 4. Desencapsidação
- 5. Síntese macromolecular
 - a. Síntese do RNA mensageiro (RNAm) inicial e de proteínas não estruturais: genes para enzimas e proteínas de ligação ao ácido nucleico
 - b. Replicação do genoma
 - c. Síntese do RNAm final e de proteínas estruturais
 - d. Modificação pós-tradução das proteínas
- 6. Montagem do vírus
- 7. Brotamento dos vírus envelopados
- 8. Liberação do vírus

Uma única rodada do ciclo de replicação viral pode ser separada em diversas fases. Durante a **fase precoce** da infecção, o vírus deve reconhecer uma célula-alvo apropriada, fixar-se nela, penetrar a membrana plasmática e ser captado por essa

célula, liberar (desencapsidar) o seu genoma dentro do citoplasma e, se necessário, liberar o genoma para o núcleo. A fase tardia começa com o início da replicação do genoma e a síntese macromolecular viral e procede por meio da montagem e da liberação viral. A desencapsidação do genoma a partir do capsídeo ou envelope, durante a fase precoce, abole sua capacidade infecciosa e sua estrutura identificável, iniciando-se, assim, o período de eclipse. O período de eclipse, semelhante ao eclipse solar, termina com o aparecimento de novos vírions após a montagem do vírus. O período latente (não confundir com infecção latente), durante o qual um vírus infeccioso extracelular não é detectado, inclui o período de eclipse e termina com a liberação de novos vírus (Fig. 36-9). Cada célula infectada pode produzir até 100.000 partículas; contudo, somente 1% a 10% dessas partículas podem ser infecciosas. As partículas não infecciosas (partículas defeituosas) resultam de mutações e erros na fabricação e montagem do vírion. A produção de vírus infecciosos por célula, ou burst size, e o tempo necessário para um único ciclo de reprodução do vírus são determinados pelas propriedades desse vírus e da célula-alvo. Embora possa parecer um desperdício produzir tantas partículas defeituosas, o vírus utiliza esse mecanismo para gerar mutantes que podem ter uma vantagem seletiva, e 1% dos 100.000 vírus ainda é uma grande quantidade de vírus.

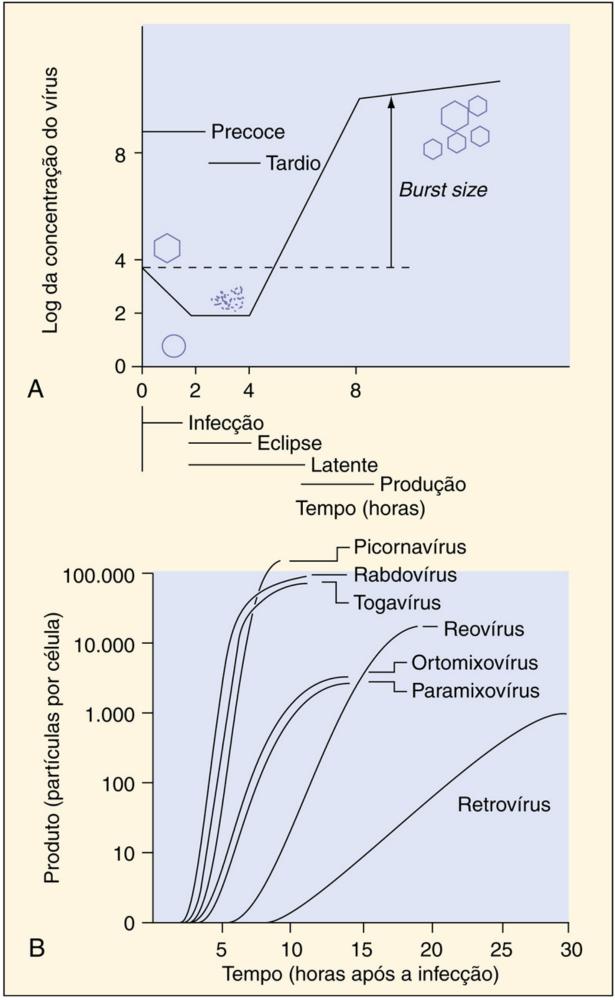


FIGURA 36-9 A, Curva de crescimento de ciclo único de um vírus liberado pela lise celular. Os estágios diferentes são definidos pela ausência de componentes virais visíveis (período de eclipse) ou vírus infecciosos no meio (período latente), ou pela presença de síntese macromolecular (fases precoce/tardia). **B,** Curva de

Reconhecimento e Fixação na Célula-alvo

A ligação das **VAPs** ou estruturas na superfície do capsídeo do vírion (Tabela 36-5) aos **receptores na célula** (Tabela 36-6) inicialmente determina quais células podem ser infectadas por um vírus. *Os receptores para o vírus na célula podem ser proteínas ou carboidratos em glicoproteínas ou glicolipídios*. Os vírus que se ligam aos receptores expressos em tipos específicos de célula podem ser restritos a certas espécies (**espectro de hospedeiros**) (p. ex., humanos, camundongos) ou tipos específicos de células. A suscetibilidade da célula-alvo define o **tropismo tecidual** (p. ex., neurotrópico, linfotrópico). O vírus Epstein-Barr (EBV), um herpes-vírus, possui um espectro de hospedeiros e um tropismo muito limitados, porque este se liga ao receptor C3d (CR2) expresso nas células B humanas. O parvovírus B19 liga-se ao globosídeo (antígeno P do grupo sanguíneo) expresso nas células precursoras eritroides.



Tabela 36-5

Exemplos de Proteínas de Fixação Viral

Família do Vírus	Vírus	Proteína de Fixação Viral
Picornaviridae	Rinovírus	Complexo VP1-VP2-VP3
Adenoviridae	Adenovírus	Proteína da fibra
Reoviridae	Reovírus Rotavírus	σ-1 VP7
Togaviridae	Vírus da floresta de Semliki	gp complexo E1-E2-E3
Rhabdoviridae	Vírus da raiva	gp proteína G
Orthomyxoviridae	Vírus da influenza A	gp HA
Paramyxoviridae	Vírus do sarampo	gp HA
Herpesviridae	Vírus Epstein-Barr	gp350 e gp220
Retroviridae	Vírus da leucemia murina Vírus da imunodeficiência humana	gp70 gp120

gp, Glicoproteína; HA, hemaglutinina.



Tabela 36-6

Exemplos de Receptores Virais

Vírus	Célula-alvo	Receptor*
Vírus Epstein-Barr	Célula B	Receptor do complemento C3d – CR2 (CD21)
Vírus da imunodeficiência humana	Célula T auxiliar	Molécula CD4 e correceptor de quimiocina
Rinovírus	Células epiteliais	ICAM-1 (proteína da superfamília da imunoglobulina)
Poliovírus	Células epiteliais	Proteína da superfamília da imunoglobulina
Vírus do herpes simples	Muitas células	Mediador de entrada do herpes-vírus (HVEM), nectina-1
Vírus da raiva	Neurônio	Receptor de acetilcolina, NCAM
Vírus da influenza A	Células epiteliais	Ácido siálico
Parvovírus B19	Precursores eritroides	Antígeno P eritrocitário (globosídeo)

CD, diferenciação dos clusters; ICAM-1, molécula de adesão intercelular; NCAM, molécula de adesão celular neuronal.

A estrutura de fixação viral num capsídeo do vírus pode ser parte do capsídeo ou uma proteína que se estende a partir desse capsídeo. Um cânion na superfície dos picornavírus, como o rinovírus 14, serve como um "buraco de fechadura" para inserção de uma porção da molécula de adesão intercelular (ICAM-1) da superfície celular (Fig. 46-2). As fibras dos adenovírus e as proteínas σ -1 dos reovírus nos vértices dos capsídeos interagem com os receptores expressos em células-alvo específicas.

^{*} Outros receptores para esses vírus também podem existir.

Glicoproteínas específicas são as VAPs de vírus envelopados. A HA do vírus da gripe A liga-se a hidratos de carbono específicos de ácido siálico expressos em muitas, mas não todas, as células de espécies diferentes. Similarmente, os α-togavírus e os flavivírus são capazes de se ligar aos receptores expressos nas células de muitas espécies de animais, incluindo artrópodes, répteis, anfíbios, pássaros e mamíferos. Isto os permite infectar animais, mosquitos e outros insetos e ser disseminados por eles.

Penetração

Interações entre múltiplas VAPs e receptores celulares iniciam a internalização do vírus para dentro da célula. O mecanismo de internalização depende da estrutura do vírion e do tipo de célula. A maioria dos vírus não envelopados entra na célula por endocitose mediada por receptor ou por meio de viropexia. A **endocitose** é um processo normal usado pela célula para a captação de moléculas ligadas a receptor, como hormônios, lipoproteínas de baixa densidade e transferrina. Picornavírus, papilomavírus e poliomavírus podem penetrar por **viropexia**. As estruturas hidrofóbicas das proteínas do capsídeo podem ficar expostas após a ligação do vírus às células e essas estruturas auxiliam o vírus ou o genoma viral a deslizar através da membrana (penetração direta).

Os vírus envelopados fundem suas membranas com as membranas celulares para liberar o nucleocapsídeo ou o genoma diretamente dentro do citoplasma. O pH ideal para a fusão determina se a penetração ocorre na superfície celular em pH neutro ou se o vírus deve ser internalizado por endocitose e a fusão ocorrer em um endossomo em pH ácido. A atividade de fusão pode ser provida pela VAP ou por outra proteína. A HA do influenza A (Fig. 36-7) liga-se aos receptores de ácido siálico na célula-alvo. Sob as condições de acidez branda do endossomo, a HA sofre uma dramática mudança de conformação para expor porções hidrofóbicas capazes de promover a fusão da membrana. Os paramixovírus possuem uma proteína de fusão que é ativa em pH neutro para promover a fusão vírus-célula. Os paramixovírus podem também promover a fusão célula-célula para formar células gigantes multinucleadas (sincícios). Alguns herpes-vírus e retrovírus fundem-se com células em pH neutro e induzem sincícios após a replicação.

Desencapsidação

Uma vez internalizado, o nucleocapsídeo deve ser transferido para o ponto de replicação dentro da célula e o capsídeo ou o envelope, removido. O genoma dos vírus de DNA, exceto dos poxvírus, deve ser transferido para o núcleo, enquanto a maioria dos vírus de RNA permanece no citoplasma. O processo de desencapsidação pode ser iniciado por uma fixação ao receptor ou promovido por ambiente ácido ou por proteases encontradas em um endossomo ou lisossomo. Os capsídeos dos picornavírus são enfraquecidos pela liberação da proteína de capsídeo VP4 para permitir a desencapsidação. A VP4 é liberada pela inserção do receptor no ponto de fixação do capsídeo, em forma de cânion, similar a um buraco de fechadura. Os vírus envelopados são desencapsidados na fusão com as membranas das células. A fusão do envelope do herpes-vírus com a membrana plasmática libera seu nucleocapsídeo, o qual então se "ancora" na membrana nuclear para transferir o seu genoma de DNA diretamente no ponto de replicação. A liberação do nucleocapsídeo do influenza, a partir de sua matriz e envelope, é facilitada pela passagem de prótons de dentro do endossomo através do poro de íon formado pela proteína de membrana M2 do influenza para acidificar o vírion.

Reovírus e poxvírus são apenas parcialmente desencapsidados na entrada. O capsídeo externo do reovírus é removido, mas o genoma permanece em um capsídeo interno que contém as polimerases necessárias para a síntese de RNA. A desencapsidação inicial dos poxvírus expõe uma partícula subviral ao citoplasma, permitindo a síntese de RNAm por enzimas contidas no vírion. Uma enzima desencapsidada pode, então, ser sintetizada para liberar o cerne contendo DNA no citoplasma.

Síntese Macromolecular

Uma vez dentro da célula, o genoma deve dirigir a síntese de RNAm viral e de proteínas e gerar cópias idênticas de si próprio. O genoma é inutilizado, a menos que possa ser transcrito em RNAms funcionais capazes de se ligar aos ribossomos e ser traduzidos em proteínas. O modo pelo qual cada vírus cumpre essas etapas depende da estrutura do genoma (Fig. 36-10) e do ponto de replicação.

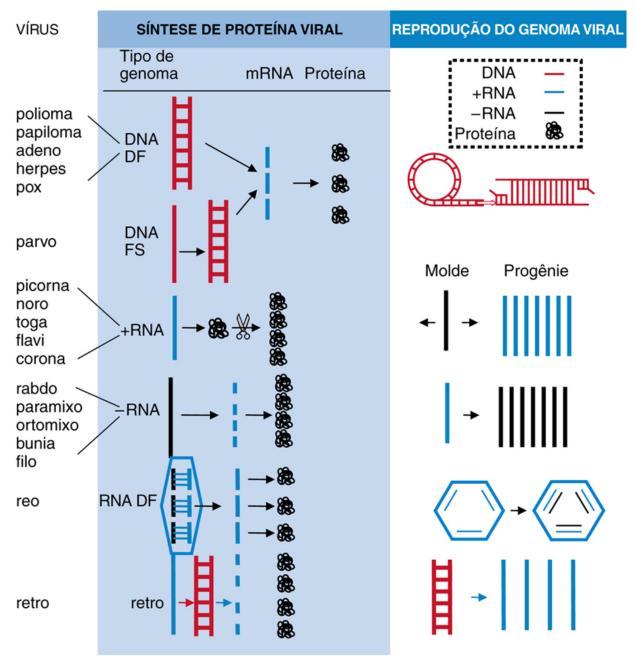


FIGURA 36-10 Etapas da síntese macromolecular viral: a estrutura do genoma determina o mecanismo de síntese de RNAm e proteína viral e também da replicação do genoma. (1) O DNA de dupla-fita (*DNA DF*) usa o maquinário do hospedeiro no núcleo (exceto os poxvírus) para criar um RNAm, que é traduzido em proteínas pelos ribossomos da célula hospedeira. A replicação do DNA viral ocorre de modo semiconservativo, por círculo rolante, linear e de outras maneiras. (2) O DNA de fita simples (*DNA FS*) é convertido em DNA DF e replica-se como DNA DF. (3) O RNA (+) lembra um RNAm que se liga a ribossomos para criar uma poliproteína que é clivada em proteínas individuais. Uma das proteínas virais é uma RNA polimerase que cria um molde de RNA (–) e, então, mais descendentes de genoma de RNA (+) e RNAm. (4) O RNA (–) é transcrito em RNAms e em um molde RNA (+) de tamanho total por uma RNA polimerase carregada no vírion. O molde de RNA (+) é usado para criar uma progênie de genoma RNA (–). (5) O RNA DF age como um RNA (–). As fitas (–) são transcritas em RNAm por uma RNA polimerase no capsídeo. Novos RNAs (+) tornam-se encapsidados e RNAs (–) são feitos no capsídeo interior. (6) Os retrovírus são RNA (+) que são convertidos em DNA complementar (DNAc) por transcriptase reversa carregada no vírion. O DNAc integra-se ao cromossomo do hospedeiro e esse hospedeiro cria RNAms, proteínas e cópias de tamanho total de genomas de RNA.

O maquinário da célula para transcrição e processamento do RNAm é encontrado no núcleo. A maioria dos vírus de DNA usa a RNA polimerase II DNA-dependente da célula e outras enzimas para fazer o RNAm. (Os nomes das polimerases descrevem o que elas fazem — primeiro o molde e, em seguida, o produto [p. ex., a polimerase que produz o RNAm na célula é uma RNA polimerase dependente de DNA, e a enzima que copia o DNA é uma DNA polimerase dependente de DNA].) Além disso, os RNAms virais adquirem uma cauda 3′ poliadenilada (poliA) e uma tampa (*cap*) metilada na extremidade 5′ (para ligação ao ribossomo) e são processados para remover íntrons, antes de serem exportados para o citoplasma como RNAm eucariótico. Os vírus que se replicam no citoplasma devem prover essas funções ou uma alternativa. Embora os poxvírus sejam vírus de DNA, eles se replicam no citoplasma e, assim, devem codificar enzimas para todas essas funções. A maioria dos vírus de RNA se replica e produz RNAm no citoplasma, exceto para os ortomixovírus e os retrovírus. Os vírus de RNA devem codificar as enzimas necessárias para a transcrição e replicação, uma vez que a célula

não tem meios de replicar RNA. Os RNAms nos vírus de RNA podem ou não podem adquirir um *cap* 5' ou uma cauda poliA.

O genoma desencapsidado dos vírus de DNA (exceto os poxvírus) e os vírus de RNA de sentido positivo (exceto os retrovírus) são algumas vezes referidos como **ácidos nucleicos infecciosos**, porque são suficientes para iniciar a replicação ao serem injetados na célula. Esses genomas podem interagir diretamente com o maquinário do hospedeiro para promover a síntese de RNAm ou de proteína.

Em geral, o RNAm para proteínas não estruturais é transcrito primeiro (Fig. 36-11). Os **produtos precoces do gene** (proteínas não estruturais) são frequentemente proteínas de ligação ao DNA e enzimas, incluindo polimerases de vírus codificados. Essas proteínas são catalíticas e apenas umas poucas são requeridas. A replicação do genoma usualmente inicia a transição para a transcrição dos produtos de gene tardio. **Genes virais tardios** codificam proteínas estruturais e outras. Muitas cópias dessas proteínas são requeridas para empacotar o vírus, mas geralmente não são requeridas antes de o genoma estar replicado. Os genomas recém-replicados também provêm novos moldes para amplificar a síntese de RNAm de gene tardio. Os diferentes vírus de DNA e de RNA controlam o tempo e a quantidade de gene viral e a síntese de proteínas de maneiras diferentes.

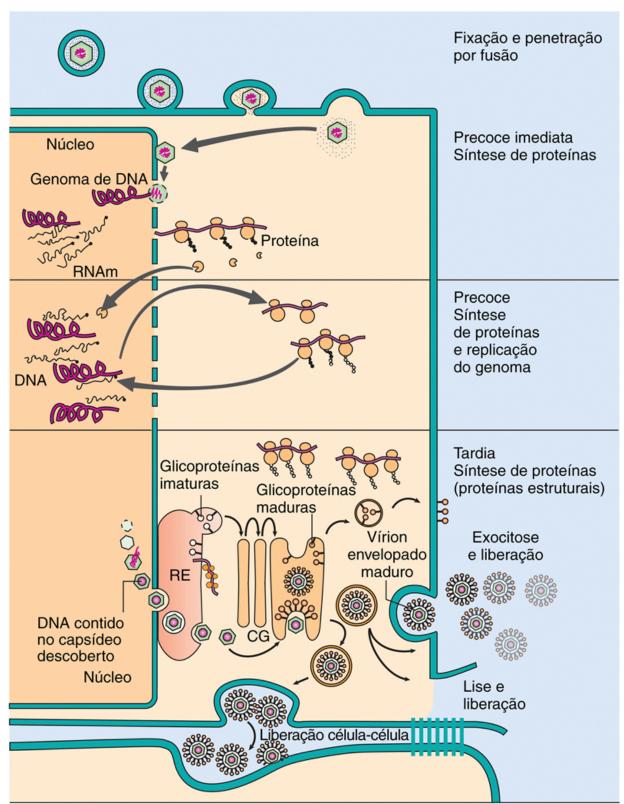


FIGURA 36-11 Replicação do vírus do herpes simples, um complexo vírus envelopado de DNA. O vírus se liga a receptores específicos e funde-se com a membrana plasmática. O nucleocapsídeo libera, então, o genoma de DNA para o núcleo. A transcrição e a tradução ocorrem em três fases: precoce imediata, precoce e tardia. As proteínas da fase precoce imediata promovem a tomada da célula; as proteínas precoces consistem em enzimas, incluindo a DNA polimerase DNA-dependente; e as proteínas tardias são estruturais e outras proteínas, incluindo o capsídeo viral e as glicoproteínas. O genoma é replicado antes da transcrição dos genes tardios. Proteínas de capsídeo migram para dentro do núcleo, montam-se em capsídeos icosadeltaédricos e são preenchidas com genoma de DNA. Os capsídeos preenchidos com genomas brotam através das membranas nuclear e do retículo endoplasmático (*RE*) para dentro do citoplasma, adquirem proteínas tegumentares e, então, adquirem seu envelope e brotam através das membranas modificadas pela glicoproteína viral da rede trans-Golgi. O vírus é liberado por exocitose ou pela lise da célula. *CG*, complexo de Golgi.

Vírus de DNA

A transcrição do genoma do vírus de DNA (exceto os poxvírus) ocorre no núcleo, usando as polimerases e outras enzimas da célula do hospedeiro para a síntese do RNAm viral (Quadro 36-7). A transcrição dos genes virais é regulada pela

interação de proteínas específicas de ligação ao DNA com elementos promotores e intensificadores da transcrição (em inglês, *enhancer*) no genoma viral. Os elementos promotores e intensificadores virais são semelhantes em sequência àqueles da célula hospedeira para permitir a ligação dos fatores de ativação transcricionais da célula e a RNA polimerase DNA-dependente. As células de alguns tecidos não expressam as proteínas de ligação ao DNA necessárias para ativação dos genes de transcrição viral, e a replicação do vírus nessas células é, então, impedida ou limitada.



Quadro 36-7 Propriedades dos Vírus de DNA

O DNA não é transitório ou instável.

Muitos vírus de DNA estabelecem infecções persistentes (p. ex., latentes, imortalizados).

Os genomas de DNA residem no núcleo (exceto nos poxvírus).

O DNA viral assemelha-se ao DNA do hospedeiro quanto à transcrição e à replicação.

Genes virais devem interagir com o maquinário transcricional do hospedeiro (exceto nos poxvírus).

A transcrição do gene viral é temporariamente regulada.

Genes precoces codificam proteínas de ligação ao DNA e enzimas.

Genes tardios codificam proteínas estruturais e outras proteínas.

As DNA polimerases requerem um primer para replicar o genoma viral.

Os maiores vírus de DNA codificam meios de promover a replicação eficiente de seus genomas.

Parvovírus: requer células sofrendo síntese de DNA para se replicar.

Papilomavírus: estimula o crescimento da célula e a síntese do DNA.

Poliomavírus: estimula o crescimento da célula e a síntese do DNA.

Hepadnavírus: estimula o crescimento celular, a célula cria RNA intermediário e codifica uma transcriptase reversa.

Adenovírus: estimula a síntese do DNA celular e codifica sua própria polimerase.

Herpes-vírus: estimula o crescimento da célula, codifica a própria polimerase e enzimas para prover

desoxirribonucleotídeos para a síntese do DNA, e estabelece uma infecção latente no hospedeiro.

Poxvírus: codifica sua própria polimerase e enzimas para prover desoxirribonucleotídeos para a síntese do DNA, maquinário de replicação e maquinário de transcrição no citoplasma.

Os diferentes vírus de DNA controlam a duração, o tempo e a quantidade da síntese de gene viral e proteínas de formas diferentes. Os vírus mais complexos codificam seus próprios ativadores transcricionais, os quais ativam ou regulam a expressão dos genes virais. Por exemplo, o HSV codifica muitas proteínas que regulam a cinética da expressão dos genes virais, incluindo a VMW 65 (proteína α-TIF, VP16). A VMW 65 é carregada no vírion, liga-se ao complexo de ativação da transcrição da célula do hospedeiro (Oct-1) e ativa sua capacidade de estimular a transcrição dos genes precoces imediatos do vírus.

Os genes podem ser transcritos de qualquer fita de DNA do genoma e também em direções opostas. Por exemplo, os genes precoces e tardios do poliomavírus SV40 estão em fitas de DNA opostas e não sobrepostas. Os genes virais podem ter íntrons, requerendo processamento pós-transcricional do RNAm pelo maquinário nuclear da célula (*splicing*). Os genes tardios do papilomavírus, do poliomavírus e dos adenovírus são inicialmente transcritos como um grande RNA a partir de um único promotor e então processados para produzir muitos RNAms diferentes após a remoção de diferentes sequências intervenientes (íntrons).

A replicação do DNA viral segue as mesmas regras bioquímicas do DNA celular e requer uma DNA polimerase dependente de DNA, outras enzimas e trifosfatos desoxirribonucleotídeos, especialmente timidina. A replicação é iniciada em uma única sequência de DNA do genoma, chamada **origem** (**ori**). Este é um sítio reconhecido por fatores nucleares virais ou celulares e pela **DNA polimerase DNA-dependente**. A síntese de DNA viral é semiconservativa, e as *DNA polimerases viral e celular requerem um iniciador* (primer) para iniciar a síntese da cadeia de DNA. Os parvovírus têm sequências que são invertidas e repetidas para permitir que o DNA se dobre de volta e hibridize consigo mesmo para prover um *primer*. A replicação do genoma do adenovírus é iniciada pela desoxicitidina monofosfato ligada a uma proteína terminal. Uma enzima celular (primase) sintetiza um *primer* de RNA para começar a replicação dos genomas do papilomavírus e e do poliomavírus, enquanto os herpes-vírus codificam uma primase.

A replicação do genoma dos vírus simples de DNA (p. ex., parvovírus, poliomavírus, papilomavírus) usam as DNA polimerases DNA-dependente do hospedeiro, enquanto os maiores e mais complexos vírus (p. ex., adenovírus, herpes-vírus, poxvírus) codificam suas próprias polimerases (os vírus Puny Parvo, Polyoma e Papilloma exigem polimerases celulares). As polimerases virais são normalmente mais rápidas, mas menos precisas do que as polimerases da célula do hospedeiro, causando uma taxa de mutação mais alta nos vírus e provendo um alvo para análogos de nucleotídeos como as drogas antivirais.

A replicação do hepadnavírus é única, uma vez que ele é maior que a cópia do genoma de RNA de fita positiva e circular, sendo sintetizado primeiro pela RNA polimerase DNA-dependente da célula. Proteínas virais circundam o RNA, uma DNA polimerase RNA-dependente viral codificada (transcriptase reversa) nesse cerne de vírion cria um DNA de fita negativa, e, então, o RNA é degradado. A síntese do DNA de fita positiva é iniciada, mas para quando o genoma e o cerne são envelopados, produzindo um genoma com DNA circular e parcialmente de dupla fita.

As principais limitações para a replicação de um vírus de DNA incluem a disponibilidade de substratos de DNA polimerase e desoxirribonucleotídeos. A maioria das células na fase de repouso do crescimento não está realizando síntese de DNA, porque as enzimas necessárias não estão presentes e as quantidades de desoxitimidina são limitadas. *Quanto menor o vírus de DNA, mais dependente o vírus é da célula hospedeira* para o provimento dessas funções (Quadro 36-7). Os parvovírus são os menores vírus de DNA e replicam-se somente em células em crescimento, como as células precursoras de eritrócitos ou tecido fetal. Aumentar a velocidade de crescimento da célula pode incrementar a síntese do DNA e RNAm virais. O antígeno T do SV40, o E6 e o E7 do papilomavírus e as proteínas E1a e E1b do adenovírus ligam-se a proteínas inibidoras de crescimento (p53 e o produto do gene do retinoblastoma) e impedem seu funcionamento, resultando em crescimento celular, o qual também promove a replicação viral. O HSV é um exemplo de um grande vírus de DNA que codifica uma DNA polimerase e enzimas removedoras (*scavenger*) (p. ex., desoxirribonuclease, ribonucleotídeo redutase, timidina quinase) para gerar os substratos desoxirribonucleotídeos necessários para a replicação do seu genoma. Os vírus de DNA maiores podem replicar-se em células em crescimento e em não crescimento.

Vírus de RNA

A replicação e a transcrição dos vírus de RNA são processos similares, porque os genomas virais são usualmente um RNAm (RNA de fita positiva) (Fig. 36-12) ou um molde para o RNAm (RNA de fita negativa) (Fig. 36-13; Quadro 36-8). Durante a replicação e a transcrição é formado um intermediário replicativo de RNA de dupla fita. O RNA de dupla fita normalmente não é encontrado em células não infectadas e é um forte indutor das proteções inatas do hospedeiro.

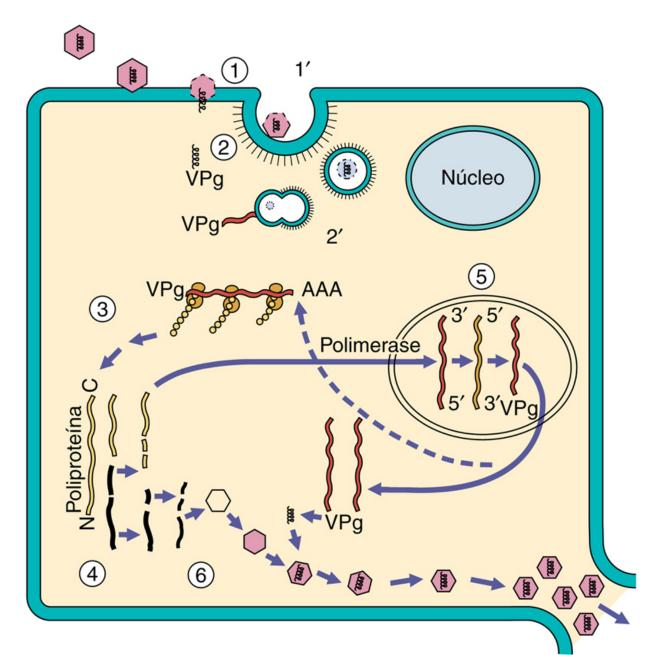


FIGURA 36-12 Replicação dos picornavírus: um vírus de RNA (+) simples. 1, A interação dos picornavírus com os receptores na superfície da célula define a célula-alvo e enfraquece o capsídeo. 2, O genoma é injetado através do vírion e atravessa a membrana celular. 2', Alternativamente, o vírion é endocitado e, então, o genoma é liberado. 3, O genoma é usado como RNAm para a síntese de proteína. Uma grande poliproteína é traduzida a partir do genoma do vírion. 4, Então, a poliproteína é clivada proteoliticamente em proteínas individuais, incluindo a RNA polimerase RNA-dependente. 5, Síntese macromolecular processa-se em uma vesícula. A polimerase cria um molde de fita (–) a partir do genoma e replica esse genoma. A proteína (*VPg*) é covalentemente ligada na terminação 5' do genoma viral. 6, As proteínas estruturais associam-se dentro da estrutura de capsídeo, o genoma é inserido e os vírions são liberados na lise celular.

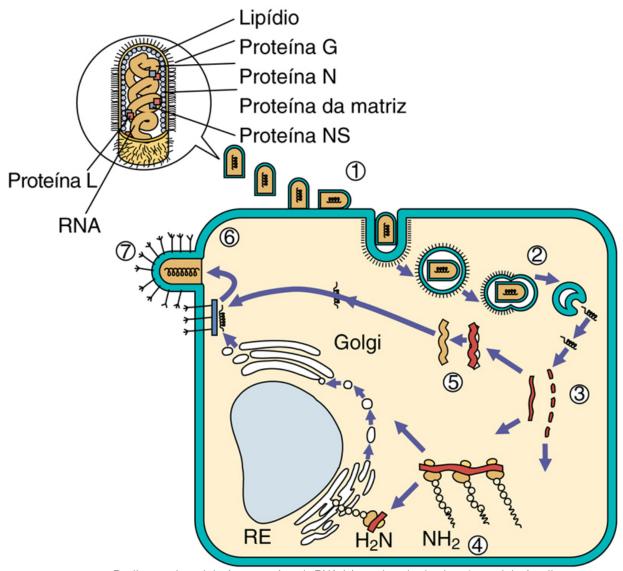


FIGURA 36-13 Replicação dos rabdovírus: um vírus de RNA (–) envelopado simples. 1, os rabdovírus ligam-se à superfície da célula e são (2) endocitados. O envelope funde-se à membrana da vesícula do endossomo para liberar o nucleocapsídeo no citoplasma. O vírion deve carregar uma polimerase que (3) produz cinco RNAs mensageiros (RNAms) individuais e um molde de RNA (+) de tamanho total. 4, Proteínas são traduzidas dos RNAms, incluindo uma glicoproteína (G) que é glicosilada paralelamente à tradução no retículo endoplasmático (RE), processada no complexo de Golgi e transferida para a membrana da célula. 5, O genoma é replicado a partir do molde de RNA (+) e as proteínas N, L e NS associam-se ao genoma para formar o nucleocapsídeo. 6, A proteína da matriz associa-se à membrana modificada pela proteína G, o que é seguido pela montagem do núcleocapsídeo. 7, O vírus brota da célula num vírion em formato de bala de arma de fogo.



Quadro 36-8 Propriedades dos Vírus de RNA

O RNA é instável e transitório.

A maioria dos vírus de RNA replica-se no citoplasma.

As células não podem replicar o RNA. Os vírus de RNA devem codificar uma RNA polimerase RNA-dependente.

A estrutura do genoma determina os mecanismos de transcrição e replicação.

Os vírus de RNA são propensos a mutação.

A estrutura do genoma e a polaridade determinam como o RNA mensageiro (RNAm) viral é gerado e as proteínas são processadas.

Os vírus de RNA, exceto o genoma do RNA (+), devem levar polimerases.

Todos os vírus de RNA (-) são envelopados.

Picornavírus, Togavírus, Flavivírus, Calicivírus e Coronavírus

O genoma de RNA (+) assemelha-se ao RNAm e é traduzido em uma poliproteína, que é proteolisada. Um molde de RNA (-) é usado para a replicação. Para os togavírus, coronavírus e calicivírus, proteínas iniciais são traduzidas a partir do genoma e as proteínas finais de RNAm menores, transcritas a partir do molde.

Ortomixovírus, Paramixovírus, Rabdovírus, Filovírus e Buniavírus

O genoma do RNA (–) é um molde para RNAms individuais, mas um molde de RNA (+) de tamanho total é requerido para a replicação. Ortomixovírus replicam-se e são transcritos no núcleo, e cada segmento do genoma codifica um RNAm e é um molde.

Reovirus

O genoma segmentado de RNA (+/-) é um molde para o RNAm (RNA+). O RNA (+) pode também ser encapsidado para gerar o RNA (+/-) e então mais RNAm.

Retrovírus

O genoma do RNA (+) do retrovírus é convertido em DNA, o qual é integrado na cromatina do hospedeiro e transcrito como um gene celular.

O genoma do vírus de RNA deve codificar **RNA polimerases RNA-dependentes** (**replicases e transcriptases**), porque a célula não tem meios de replicar o RNA. Ao contrário dos vírus de DNA, os vírus de RNA também devem fornecer as enzimas para a síntese e processamento do RNAm viral. Isso pode ser tão simples como a adição de uma proteína terminal para os picornavírus ou como RNAm eucariótico, a adição de uma tampa (*cap*) de metilguanosina 5′ e 3′ poliadenosina. Os vírus de RNA também devem trazer a maquinaria para esses processos, juntamente com o genoma ou o molde.

Como o RNA é degradado relativamente rápido, a RNA polimerase RNA-dependente deve ser provida ou sintetizada logo após a desencapsidação para gerar mais RNA viral, ou a infecção será abortada. A maioria das RNA polimerases virais trabalha em um ritmo rápido, mas também é propensa ao erro, causando mutações. A replicação do genoma provê novos moldes para produção de mais RNAm e genomas, o que amplifica e acelera a replicação do vírus.

Os genomas virais de RNA de fita positiva dos picornavírus, calicivírus, coronavírus, flavivírus e togavírus agem como RNAm, ligam-se aos ribossomos e dirigem a síntese de proteína. *O genoma viral de RNA de fita positiva livre (fora do capsídeo) é suficiente para iniciar a infecção por si mesmo*. As proteínas virais são traduzidas, a partir do genoma, como uma poliproteína que é clivada por proteases celulares e virais em proteínas ativas. O genoma e as enzimas necessárias para a replicação do vírus são montadas em um suporte de membrana ou no interior de uma vesícula. A RNA polimerase dependente de RNA codificada pelo vírus produz um molde de RNA de cadeia negativa (antigenoma), e esse molde é usado para gerar mais RNAm e para replicar o genoma. Para o picornavírus e o flavivírus, o genoma e o RNA-molde de sentido negativo e o RNAm são do mesmo tamanho. Para os togavírus, coronavírus e calicivírus, um molde de tamanho completo e RNAm é produzido e, mais tarde, RNAms menores para proteínas estruturais e outras (genes tardios) são gerados a partir do molde. Os RNAms nos picornavírus não têm o *cap* na extremidade 5′, mas o RNA para os outros vírus tem *cap* 5′ e cauda poliA. Transcrição e replicação dos coronavírus compartilham muitos desses aspectos, porém são mais complexas.

Os genomas virais de RNA de fita negativa dos rabdovírus, ortomixovírus, paramixovírus, filovírus e buniavírus são os moldes para a produção de RNAm. O genoma de RNA de fita negativa não é infeccioso por si só, e uma polimerase deve ser carreada para dentro da célula com o genoma (associado ao genoma como uma parte do nucleocapsídeo) para fazer RNAm individual para as diferentes proteínas virais. Como resultado, um RNA de fita positiva de tamanho total deve também ser produzido pela polimerase viral para agir como molde para gerar mais cópias do genoma. O genoma de RNA (–) é como os negativos de um rolo de filme de cinema: cada quadro codifica uma foto/RNAm, mas um positivo de tamanho total é requerido para replicar o rolo. Exceto para os vírus da influenza, a transcrição e a replicação dos vírus de RNA de fita negativa ocorrem no citoplasma. A transcriptase do influenza requer um primer para produzir RNAm. Ele usa as terminações 5' do RNAm celular no núcleo como primers para a sua polimerase e, no processo, rouba o cap 5' do RNAm celular. O genoma do influenza é também replicado no núcleo.

Os reovírus possuem um **genoma de RNA segmentado e de dupla fita** e estão sujeitos a meios mais complexos de replicação e transcrição. A RNA polimerase do reovírus é parte do cerne do capsídeo interno. Unidades de RNAm individuais são transcritas a partir de cada um dos 10 ou mais segmentos do genoma, enquanto eles estão ainda no cerne. As fitas negativas dos segmentos do genoma são usadas como moldes para o RNAm de modo semelhante àquele dos vírus de RNA de fita negativa. As enzimas codificadas pelo reovírus, contidas no cerne do capsídeo interno, adicionam o *cap* 5′ ao RNAm viral. O RNAm não tem poliA. Os RNAms são liberados dentro do citoplasma, onde eles dirigem a síntese de proteínas ou são sequestrados para dentro de novos cernes. O RNA de fita positiva nos novos cernes age como um molde para o RNA de fita negativa, e a polimerase do cerne produz a prole de RNA de dupla fita.

Os arenavírus têm um **genoma de duplo sentido** com as sequências (–) adjacentes às sequências (+). Os RNAms precoces do vírus são transcritos a partir da porção de sentido negativo do genoma. Um intermediário replicativo de tamanho total é produzido para gerar um novo genoma e os RNAms tardios do vírus são transcritos a partir da região do intermediário replicativo que é complementar às sequências (+).

Embora os **retrovírus** tenham um genoma RNA de fita positiva, o vírus não provê meios para a replicação do RNA no citoplasma. Em vez disso, os retrovírus carregam duas cópias do genoma, duas moléculas de RNA transportador (RNAt) e uma DNA polimerase RNA-dependente (**transcriptase reversa**) no vírion. O RNAt é usado como um *primer* para a síntese de uma cópia do DNA complementar circular (**DNAc**) do genoma. O DNAc é sintetizado no citoplasma, vai para o núcleo e é então integrado na cromatina do hospedeiro. O genoma viral torna-se um gene celular. Promotores no fim do genoma viral integrado ativam a transcrição das sequências de DNA viral pela célula. Transcritos de RNA de tamanho total são usados como novos genomas, e RNAms individuais são gerados pelo processamento alternativo desse RNA.

O modo mais incomum de replicação é reservado para o **deltavírus**. Este se assemelha a um viroide. O genoma é um RNA de fita simples, circular e em formato de bastão, o qual é extensivamente hibridizado a si próprio. Como exceção, o genoma RNA do deltavírus é replicado pela RNA polimerase II DNA-dependente no núcleo da célula do hospedeiro. Uma porção do genoma forma uma estrutura de RNA chamada de ribozima, que cliva o RNA circular para produzir um RNAm.

Síntese de Proteína Viral

Todos os vírus dependem dos ribossomos da célula do hospedeiro, do RNAt e dos mecanismos para a modificação póstradução para produzir suas proteínas. A ligação do RNAm ao ribossomo é mediada por uma estrutura *cap* 5′ de guanosina metilada ou uma estrutura especial em alça de RNA (sequência de entrada interna de ribossomo [IRES]), que se liga internamente junto com o ribossomo para iniciar a síntese de proteína. A estrutura *cap*, se utilizada, é acoplada de diferentes formas por diferentes vírus. A estrutura IRES foi descoberta primeiro no genoma do picornavírus e então em RNAm celulares selecionados. A maioria dos RNAms, mas não todos, tem uma cauda de poliadenosina (poliA), como os RNAms eucarióticos.

Ao contrário dos ribossomos bacterianos, que podem ligar-se ao RNAm policistrônico e traduzir várias sequências de gene em proteínas distintas, o ribossomo eucariótico liga-se ao RNAm e pode produzir apenas uma proteína contínua, e então se desprende do RNAm. Cada vírus lida com essa limitação de maneira diferente, dependendo da estrutura do genoma. Por exemplo, o genoma inteiro de um vírus de RNA de fita positiva é lido pelo ribossomo e traduzido em uma **poliproteína** gigante. A poliproteína é subsequentemente clivada por proteases celulares e virais em proteínas funcionais. Os vírus de DNA, os retrovírus e a maioria dos vírus de RNA de fita negativa transcrevem RNAm separado para poliproteínas menores ou proteínas individuais. Os genomas do ortomixovírus e do reovírus são segmentados, e a maioria dos segmentos codifica proteínas únicas por essa razão.

Os vírus usam diferentes táticas para promover a tradução preferencial de seu RNAm viral, em vez do RNAm celular. Em muitos casos, a concentração do RNAm viral na célula é tão grande que ocupa a maioria dos ribossomos, impedindo a tradução do RNAm celular. A infecção por adenovírus bloqueia a saída do RNAm celular a partir do núcleo. O HSV e outros vírus inibem a síntese macromolecular celular e induzem a degradação do DNA e do RNAm da célula. Para promover a tradução seletiva de seu RNAm, os poliovírus usam uma protease codificada pelo vírus para inativar a proteína de 200.000 Da de ligação ao *cap* presente no ribossomo e impedir a ligação e a tradução do RNAm celular portador de *cap* 5′. Os togavírus e muitos outros vírus aumentam a permeabilidade da membrana das células; com isto, a afinidade ribossômica para a maioria dos RNAm celulares é diminuída. Todas essas ações também contribuem para a citopatologia da infecção do vírus. As consequências patogênicas dessas ações são discutidas adiante no Capítulo 37.

Algumas proteínas virais requerem **modificações pós--traducionais**, como fosforilação, glicosilação, acilação ou sulfatação. A fosforilação da proteína é realizada por proteínas quinases celulares ou virais e é um modo de modular, ativar ou inativar proteínas. Muitos herpes-vírus e outros vírus codificam suas próprias proteínas quinases. *As glicoproteínas virais são sintetizadas nos ribossomos ligados à membrana e têm as sequências de aminoácidos para permitir a inserção no retículo endoplasmático rugoso e a glicosilação ligada ao N.* A forma precursora de glicoproteína de alta manose progride do retículo endoplasmático por meio do sistema de transporte vesicular da célula e é processada pelo complexo de Golgi. A glicoproteína madura, contendo ácido siálico, é expressa na membrana plasmática da célula, a menos que a glicoproteína expresse sequências de proteína para retenção numa organela intracelular. A presença das glicoproteínas determina onde o vírion será montado dentro da célula. Outras modificações, como a *O*-glicosilação, a acilação e a sulfatação de proteínas, podem ocorrer também durante a progressão pelo complexo de Golgi.

Montagem

A montagem do vírion é análoga a um quebra-cabeça tridimensional entrelaçado que se arranja como uma caixa. O vírion é construído a partir de partes pequenas e facilmente fabricadas, que incluem o genoma em um pacote funcional. Cada parte do vírion tem estruturas de reconhecimento que permitem ao vírus formar as interações apropriadas proteína-proteína, proteína-ácido nucleico e (nos vírus envelopados) proteína-membrana, necessárias para a montagem na estrutura final. O processo de montagem começa quando as peças necessárias são sintetizadas e a concentração de proteínas estruturais na célula é suficiente para dirigir o processo termodinamicamente, de modo muito parecido com a reação de cristalização. O processo de montagem pode ser facilitado por proteínas de armação ou outras proteínas, algumas das quais são ativadas ou liberam energia na proteólise. Por exemplo, a clivagem da proteína VPO do poliovírus libera o peptídeo VP4, que solidifica o capsídeo.

O sítio e o mecanismo de montagem do vírion na célula dependem de onde ocorre a replicação do genoma, e se a estrutura final é um capsídeo descoberto ou um vírus envelopado. A montagem do nucleocapsídeo de DNA para outros vírus, que não os poxvírus, ocorre no núcleo e requer transporte das proteínas do vírion para dentro do núcleo. A montagem dos vírus de RNA e dos poxvírus ocorre no citoplasma.

Os capsídeos dos vírus podem ser montados como estruturas vazias (procapsídeos) para serem preenchidos com o genoma (p. ex., picornavírus) ou podem ser montados em volta do genoma. Os nucleocapsídeos dos retrovírus, dos togavírus e dos vírus de RNA de fita negativa montam-se em volta do genoma e são, subsequentemente, incluídos num envelope. O nucleocapsídeo helicoidal dos vírus de RNA de fita negativa inclui a RNA polimerase RNA-dependente necessária para a síntese de RNAm na célula-alvo.

Nos vírus envelopados, as glicoproteínas virais recém-sintetizadas e processadas são transferidas para a membrana celular pelo transporte vesicular. A aquisição de um envelope ocorre após a associação do nucleocapsídeo com regiões que contêm glicoproteínas virais das membranas celulares do hospedeiro, em um processo chamado **brotamento**. As proteínas da matriz para alguns vírus de RNA de fita negativa revestem e promovem a adesão de nucleocapsídeos com a membrana modificada por glicoproteína. À medida que mais interações ocorrem, a membrana envolve o nucleocapsídeo e o vírus brota da membrana.

O tipo de genoma e a sequência de proteínas das glicoproteínas determinam o local de brotamento. A maioria dos vírus de RNA brota da membrana plasmática e o vírus é liberado da célula ao mesmo tempo sem matar a célula. Flavivírus, coronavírus e buniavírus adquirem seu envelope por brotamento na membrana do retículo endoplasmático e na membrana do Golgi e podem permanecer associados à célula nessas organelas. O nucleocapsídeo do HSV monta-se no núcleo e brota dentro e então fora do retículo endoplasmático. O nucleocapsídeo é despejado dentro do citoplasma, proteínas virais associam-se ao capsídeo e então o envelope é adquirido por brotamento dentro de uma membrana da rede trans-Golgi decorada com as 10 glicoproteínas virais. O vírion é transportado para a superfície da célula e liberado por exocitose, na lise celular, ou transmitido através de pontes célula-célula.

Os vírus utilizam diferentes truques para garantir que todas as suas partes sejam montadas em vírions completos. A RNA polimerase requerida pela infecção por vírus de RNA de fita negativa é carreada no genoma como um nucleocapsídeo helicoidal. O vírus da imunodeficiência humana (HIV) e outros genomas de retrovírus são empacotados num procapsídeo que consiste em uma poliproteína contendo protease, polimerase, integrase e proteínas estruturais. Esse procapsídeo liga-se às membranas modificadas por glicoproteína viral e o vírion brota da membrana. A protease codificada pelo vírus é ativada dentro do vírion e cliva a poliproteína para produzir o nucleocapsídeo final e infeccioso, além das proteínas necessárias, dentro do envelope.

A montagem dos vírus com genomas segmentados, como influenza ou reovírus, requer o acúmulo de uma cópia de cada segmento de gene. Os segmentos agrupam-se dentro das estruturas criadas pelas proteínas virais.

Erros são cometidos pela polimerase viral e durante a montagem do vírus. Vírions vazios e vírions contendo genomas defeituosos são produzidos. Como resultado, a razão entre partícula e vírus infeccioso, também chamada de *razão de partícula para unidade formadora de placas*, é alta, normalmente maior que 10, e durante a rápida replicação viral pode chegar até a 10⁴. Os vírus defeituosos podem ocupar o maquinário necessário para a replicação normal do vírus (p. ex., liga-se ao receptor) para impedir (interferir com) a produção de vírus (partículas defeituosas de interferência).

Liberação

Os vírus podem ser liberados das células após a lise celular, por exocitose ou pelo brotamento da membrana plasmática. Os vírus de capsídeo descoberto são geralmente liberados depois da lise celular. A liberação de muitos vírus envelopados ocorre após o brotamento da membrana plasmática, sem matar a célula. A sobrevivência da célula permite a produção e a liberação contínuas de vírus a partir dessa fábrica. A lise e o brotamento da membrana plasmática são meios eficientes de liberação. Os vírus que brotam ou adquirem sua membrana no citoplasma (p. ex., flavivírus, poxvírus) permanecem associados com a célula e são liberados por exocitose ou lise celular. Os vírus que se ligam aos receptores de ácido siálico (p. ex., ortomixovírus, certos paramixovírus) podem ter também uma neuraminidase (NA). A NA remove receptores potenciais de ácido siálico das glicoproteínas do vírion e da célula do hospedeiro para impedir a aglutinação e facilitar a liberação.

Reinício da Replicação

A disseminação da infecção ocorre quando o vírus é liberado para o meio extracelular, mas, alternativamente, o vírus, o nucleocapsídeo ou o genoma podem ser transmitidos através das pontes célula-célula, em fusão célula-célula ou verticalmente para as células-filhas. Essas rotas alternativas permitem que o vírus escape da detecção do anticorpo. Alguns herpes-vírus, retrovírus e paramixovírus podem induzir a fusão célula-célula para unir as células em células gigantes multinucleadas (sincícios), que se tornam grandes fábricas de vírus. Os retrovírus e alguns vírus de DNA podem transmitir sua cópia integrada do genoma verticalmente para as células-filhas na divisão celular.

Genética Viral

As mutações ocorrem espontânea e prontamente nos genomas virais, criando novas linhagens virais com propriedades que diferem dos **vírus parentais ou selvagens**. Essas variantes podem ser identificadas por suas sequências de nucleotídeos, diferenças antigênicas (sorotipos) ou diferenças em propriedades funcionais ou estruturais. A maioria das mutações ou não tem efeito algum, ou é prejudicial ao vírus. As mutações em genes essenciais podem inativar os vírus. As mutações em outros genes podem produzir resistência à droga antiviral ou alterar a antigenicidade ou a patogenicidade do vírus.

Erros nas cópias do genoma viral durante a replicação do vírus produzem muitas mutações. Isto se dá por causa da baixa fidelidade da polimerase viral e pela rápida taxa de replicação do genoma. Além disso, os vírus de RNA não têm um mecanismo de checagem de erro genético. Em consequência, as taxas de mutação para os vírus de RNA são usualmente maiores do que as dos vírus de DNA.

As mutações que inativam genes essenciais são denominadas **mutações letais**. Esses mutantes são difíceis de isolar, porque o vírus não pode replicar-se. Um **mutante de deleção** resulta da perda ou remoção seletiva de uma porção do genoma e da função que ela codifica. Outras mutações podem produzir **mutantes de placa**, que diferem do tipo selvagem no tamanho ou na aparência das células infectadas, **mutantes de espectro de hospedeiros**, que diferem no tipo de tecido ou nas espécies de células-alvo que podem ser infectadas, ou **mutantes atenuados**, que são variantes que causam doenças menos graves em animais ou no homem. Os **mutantes condicionais**, como os **mutantes sensíveis à temperatura** (**ts**) ou **sensíveis ao frio**, têm uma mutação em um gene para uma proteína essencial que permite a produção do vírus apenas a certas temperaturas. Os mutantes ts crescem geralmente bem ou relativamente melhor entre 30° C e 35° C, enquanto a proteína codificada é inativa a temperaturas elevadas de 38° C a 40° C, impedindo a produção do vírus. As vacinas de vírus vivo são frequentemente de mutantes condicionais ou de espectro de hospedeiros e atenuados para doença humana.

Novas cepas de vírus podem também surgir por interações genéticas entre os vírus ou entre estes e a célula (Fig. 36-14). O intercâmbio genético intramolecular entre os vírus ou entre estes e o hospedeiro é denominado **recombinação**. A recombinação pode ocorrer prontamente entre dois vírus de DNA relacionados. Por exemplo, a coinfecção de uma célula com os dois herpes-vírus fortemente relacionados (HSV dos tipos 1 e 2) resulta em linhagens recombinantes intertípicas. Essas novas cepas híbridas apresentam genes dos tipos 1 e 2. A integração dos retrovírus na cromatina da célula hospedeira é uma forma de recombinação. A recombinação de dois vírus de RNA relacionados, o Sindbis e o vírus da encefalite equina do leste, resultou na criação de um outro togavírus, o vírus da encefalite equina do oeste (WEE).

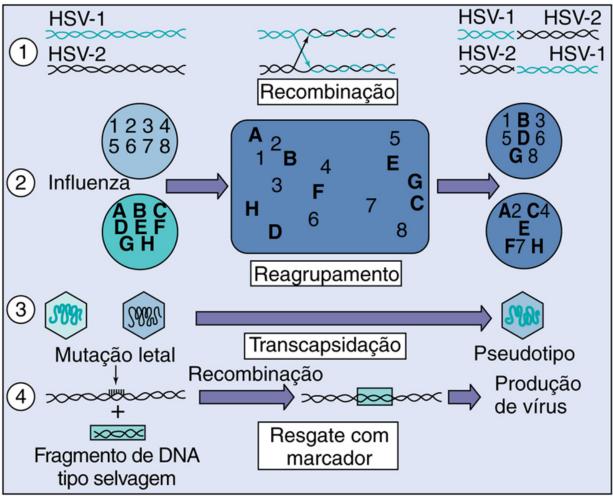


FIGURA 36-14 O intercâmbio genético entre partículas virais pode dar origem a novos tipos virais, como ilustrado. Os vírus representativos incluem os seguintes: 1, Recombinação intertípica do vírus do herpes simples do tipo 1 (*HSV-1*) e do tipo 2 (*HSV-2*); 2, reagrupamento de duas cepas do vírus da influenza; 3, recuperação de um poliomavírus defeituoso durante a montagem por um vírus defeituoso complementar (transcapsidação); e 4, resgate com marcador de uma mutação letal ou condicional.

Os vírus com genomas segmentados (p. ex., os vírus da influenza e os reovírus) formam cepas híbridas na infecção da célula com mais de uma linhagem de vírus. Esse processo, chamado **reagrupamento**, é análogo a pegar 10 bolinhas de gude numa caixa contendo 10 bolinhas pretas e 10 brancas. Cepas muito diferentes do vírus da influenza A são criadas na coinfecção com vírus de espécies diferentes (ver Fig. 49-5).

Em alguns casos, uma cepa viral defeituosa pode ser auxiliada pela replicação de outro mutante, pelo vírus de tipo selvagem ou por uma linhagem celular contendo um gene viral substituto. A replicação do outro vírus ou a expressão do gene na célula proporciona a função que faltava e que é requerida pelo mutante (**complementação**), permitindo que a replicação ocorra. Uma vacina experimental do HSV com ciclo único infeccioso incapacitado (HSV-DISC) carece de um gene

essencial e é cultivada em uma linhagem celular que expressa o produto gênico para "complementar" o vírus. O vírus da vacina pode infectar as células normais do indivíduo, mas os vírions que são produzidos perdem a função requerida para replicação em outras células e não podem se disseminar. O resgate de um mutante letal ou condicional-letal com uma sequência genética definida, como um fragmento de DNA de endonuclease de restrição, é chamado de **resgate com marcador**. O resgate com marcador é usado para mapear os genomas de vírus como o do HSV. O vírus produzido a partir de células infectadas com diferentes linhagens de vírus pode ser fenotipicamente misto e ter as proteínas de uma linhagem mas o genoma da outra (**transcapsidação**). **Pseudotipos** são gerados quando a transcapsidação ocorre entre diferentes tipos de vírus, mas isso é raro.

Cepas individuais de vírus ou mutantes individuais são **selecionadas** por sua habilidade em usar o maquinário da célula do hospedeiro e suportar as condições do corpo e do ambiente. As propriedades celulares, que podem agir como **pressões seletivas**, incluem a taxa de crescimento da célula e a expressão tecido-específica de certas proteínas requeridas pelo vírus (p. ex., enzimas, glicoproteínas, fatores de transcrição) e proteínas que impedem funções virais essenciais. As condições do corpo, sua temperatura elevada, suas defesas imunes inatas e adquiridas e a estrutura do tecido são também pressões para a seleção dos vírus. Os vírus que não podem resistir a essas condições, ou que não podem fugir das defesas do hospedeiro, são eliminados. Pequena vantagem seletiva em um vírus mutante pode, em pouco tempo, levá-lo a se tornar a cepa viral predominante. A alta taxa de mutação do vírus HIV promove mudança no tropismo da célula-alvo para incluir diferentes tipos de células T, o desenvolvimento de cepas resistentes a drogas antivirais e a geração de variantes antigênicas durante o curso da infecção de um paciente.

O crescimento de vírus sob condições laboratoriais benignas permite a sobrevivência de linhagens mais fracas por causa da ausência das pressões seletivas do corpo humano. Esse processo é usado para selecionar cepas atenuadas de vírus para uso em vacinas.

Vetores Virais para Terapia

Os vírus geneticamente manipulados podem ser excelentes sistemas de transferência para genes estranhos. Os vírus podem fornecer uma terapia de substituição de gene, podem ser usados como vacinas para promover a imunidade a outros agentes ou tumores e podem agir como assassinos direcionados a tumores. As vantagens de utilizar os vírus são as de que eles podem ser prontamente amplificados pela replicação em células apropriadas apontam para tecidos específicos e liberam DNA ou RNA dentro da célula. Os vírus que estão sendo desenvolvidos como vetores incluem retrovírus, adenovírus, HSV, vírus adenoassociados (parvovírus), poxvírus (p. ex., vacínia e vírus da varíola dos canários) (Fig. 44-7) e até mesmo alguns togavírus. Os vetores virais são usualmente vírus defeituosos ou atenuados nos quais o DNA estranho substitui um gene de virulência ou um gene não essencial. O gene estranho pode estar sob o controle de um promotor viral ou até mesmo de um promotor específico de um tecido. Os vetores de vírus defeituosos crescem em linhagens celulares que expressam as funções virais que estão faltando, "complementando" o vírus. A progênie pode transferir seu ácido nucleico, mas não produzir um vírus infeccioso. Os retrovírus e os vírus adenoassociados podem integrar-se no interior das células e permanentemente colocar um gene dentro do cromossomo da célula. O adenovírus e o HSV promovem a transferência dirigida do gene estranho para as células que portam receptores. HSV geneticamente atenuados estão sendo desenvolvidos para matar especificamente as células em crescimento dos glioblastomas, ao mesmo tempo que poupam os neurônios adjacentes. Os adenovírus e o vírus da varíola dos canários estão sendo usados para transportar e expressar o HIV e outros genes como vacinas. O vírus da vacínia carregando um gene para a glicoproteína da raiva já está sendo utilizado com sucesso para imunizar guaxinins, raposas e gambás na natureza. Algum dia, vetores de vírus poderão ser usados rotineiramente para tratar a fibrose cística, a distrofia muscular de Duchenne, as doenças de armazenamento lisossômico e distúrbios imunológicos.

Referências Bibliográficas

Cann AJ. Principles of molecular virology. ed 4 San Diego: Academic; 2005.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Fields virology. ed 5 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Rosenthal KS. Viruses: microbial spies and saboteurs. Infect Dis Clin Pract. 2006;14:97–106.

Specter SC, Hodinka RL, Wiedbrauk DL, et al. *Clinical virology manual*. ed 4 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Websites

All the virology on the WWW. www.virology.net/garryfavweb.html. Acessado em 7 de agosto de 2015.

The big picture book of viruses. www.virology.net/Big_Virology/BVHomePage.html. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Stannard L: Virological methods slideset. http://virology-online.com/general/Test1.htm. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Stannard L: Virus ultra structu de junho de 2012.	re: electron micrograph imag	ges. http://web.uct.ac.z	a/depts/mmi/stannard	/emimages.html. Ace	ssado em 10

Mecanismos da Patogênese Viral

Os vírus causam doenças quando atravessam as barreiras de proteção natural do corpo, escapam do controle imune e matam as células de um tecido importante (p. ex., o cérebro), ou então provocam resposta imune e inflamatória destrutiva. As consequências de uma infecção viral são determinadas pela natureza da interação vírus-hospedeiro e pela resposta do hospedeiro à infecção (Quadro 37-1). O melhor tratamento é a resposta imune, mas, com frequência, ela contribui para a patogênese da infecção viral. O tecido-alvo do vírus define a natureza da doença e seus sintomas. Fatores virais e do hospedeiro determinam a intensidade da doença. Esses fatores incluem a cepa do vírus, a quantidade do inóculo e o estado geral de saúde do hospedeiro. A habilidade da resposta imune do hospedeiro em controlar a infecção determina a intensidade e a duração da doença. Uma determinada doença pode ser causada por vários vírus que tenham **tropismo** (preferência) em comum por um tipo de tecido, como hepatite — fígado; resfriado comum — trato respiratório superior; encefalite — sistema nervoso central. Por outro lado, determinado vírus pode causar várias doenças diferentes ou ausência de sintomas aparentes. Por exemplo, o vírus do herpes simples tipo 1 (HSV-1) pode provocar gengivoestomatite, faringite, herpes labial, herpes genital, encefalite ou ceratoconjuntivite, dependendo do tecido afetado, ou então não ocasionar doença clínica aparente. Embora seja relativamente benigno, esse vírus pode ser potencialmente fatal em um recém-nascido ou em uma pessoa imunocomprometida.



Quadro 37-1 Determinantes da Doença Viral

Natureza da Doença

Tecido-alvo

Porta de entrada do vírus

Acesso do vírus ao tecido-alvo

Tropismo viral aos tecidos

Permissividade das células à replicação viral

Patógeno viral (cepa)

Gravidade da Doença

Habilidade citopática do vírus

Estado imune (suscetível ou imune)

Competência do sistema imune

Imunidade anterior ao vírus

Imunopatologia

Quantidade de inóculo viral

Tempo decorrido antes da resolução da infecção

Estado geral de saúde da pessoa

Estado nutricional

Outras doenças que influenciam o estado imune

Constituição genética da pessoa

Idade

Muitos vírus codificam atividades (fatores de virulência) que promovem maior eficiência da replicação viral, transmissão, acesso e ligação do vírus ao tecido-alvo ou escape das defesas do hospedeiro e da resolução pelo sistema imune (Cap. 10). Essas atividades podem não ser essenciais para o crescimento viral em cultura de células, mas são necessárias à patogenicidade ou à sobrevivência do vírus no hospedeiro. A perda desses fatores de virulência resulta na atenuação do vírus. Muitas vacinas de vírus vivos são, na verdade, constituídas por cepas atenuadas desses vírus.

Este capítulo destaca a doença viral em nível celular (citopatogênese), no nível do hospedeiro (mecanismos da doença) e no nível da população (epidemiologia e controle). A resposta imune antiviral é discutida aqui e no Capítulo 10.

Etapas Básicas da Doença Viral

No corpo, a doença viral progride por meio de etapas definidas, da mesma maneira que a replicação viral na célula (Fig. 3 1A). Essas etapas são apresentadas no Quadro 37-2.	37-

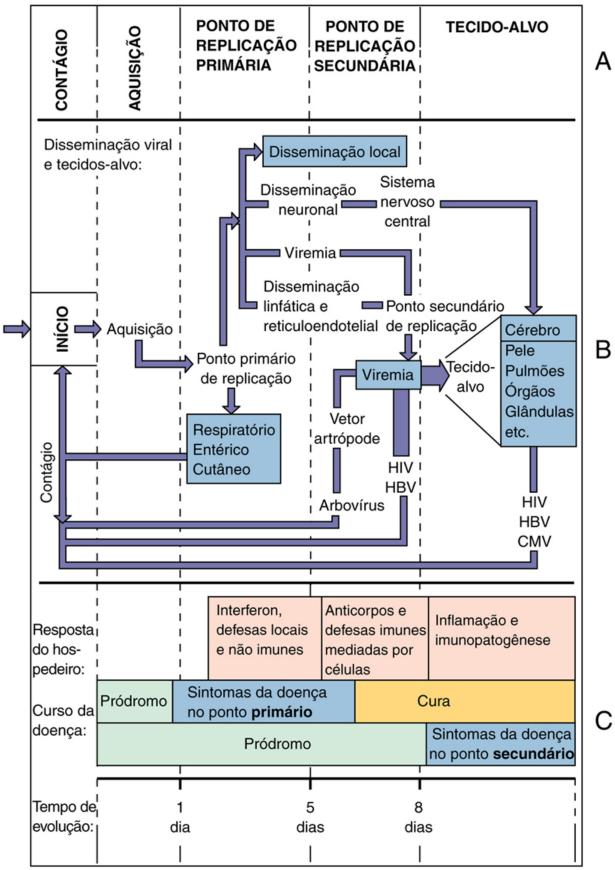


FIGURA 37-1 A, Estágios da infecção viral. O vírus é liberado por uma pessoa e adquirido por outra, replica-se e inicia uma infecção primária no ponto da aquisição. Dependendo do vírus, ele poderá então se disseminar para outros locais do corpo e, por fim, atingir o tecido-alvo característico da doença. **B,** O ciclo tem início com a aquisição, conforme indicado, e prossegue até a liberação de novos vírus. A espessura da seta indica o grau de amplificação do inóculo viral inicial. Os quadros indicam um local ou causa dos sintomas. **C,** Evolução temporal da infecção viral. A duração dos sintomas e da resposta imune se correlaciona com o estágio da infecção viral e depende da capacidade de o vírus causar sintomas no ponto primário ou somente após a disseminação para outro ponto (secundário). *CMV*, Citomegalovírus; *HBV*, vírus da hepatite B; *HIV*, vírus da imunodeficiência humana.



Quadro 37-2 Progressão da Doença Viral

- 1. **Aquisição** (entrada no organismo)
- 2. Início da infecção no ponto primário
- 3. Ativação da imunidade inata
- 4. Período de incubação, quando o vírus é amplificado e pode se disseminar para um ponto secundário
- 5. Replicação no tecido-alvo, que causa os sinais característicos da doença
- 6. Respostas do hospedeiro que limitam e contribuem (imunopatogênese) para a doença
- 7. Produção de vírus em um tecido ou órgão que permita a disseminação para outro hospedeiro, ocorrendo o contágio
- 8. Resolução ou infecção persistente/doença crônica

O período de incubação pode evoluir sem sintomas (assintomático) ou produzir sintomas precoces inespecíficos, como febre, dor de cabeça, dor no corpo ou calafrios, em um quadro denominado **pródromo**. Frequentemente a infecção viral é debelada pelas respostas inatas do hospedeiro, sem sintomas. Os sintomas da doença são causados por danos teciduais e os efeitos sistêmicos são causados pelo vírus e pela resposta imunológica do hospedeiro. Esses sintomas podem persistir durante a fase de **convalescença**, enquanto o corpo repara os danos. Geralmente, o indivíduo desenvolve uma memória imunológica que confere proteção futura contra uma segunda infecção pelo mesmo vírus.

Infecção do Tecido-alvo

O vírus **têm acesso ao corpo** por meio de lesões na pele (cortes, mordidas, injeções) ou através das membranas mucoepiteliais que revestem os orifícios do corpo (olhos, trato respiratório, boca, genitália e trato gastrointestinal). A pele íntegra é uma barreira excelente contra a infecção. Lágrimas, muco, epitélio ciliado, ácido estomacal, bile e a imunoglobulina (Ig)A protegem esses orifícios. A inalação é provavelmente a rota de entrada mais comum das partículas virais.

Ao penetrar no corpo, o vírus se replica em células que expressam receptores virais e têm o maquinário biossintético apropriado. Muitos vírus iniciam a infecção na mucosa oral ou no trato respiratório superior, e os sinais da doença podem acompanhar a replicação viral no ponto primário. Os vírus podem se replicar e permanecer no ponto primário, ou então se disseminar para outros tecidos via corrente sanguínea, via sistema mononuclear fagocitário e linfático, ou ainda via neurônios (Fig. 37-1B).

A corrente sanguínea e o sistema linfático são as principais vias de disseminação dos vírus no corpo. Os vírus obtêm acesso a esses meios após dano ao tecido, mediante absorção por macrófagos ou no transporte através das células mucoepiteliais da orofaringe, do trato gastrointestinal, da vagina ou do ânus. Vários vírus entéricos (picornavírus e reovírus) se ligam aos receptores em células M, que os translocam para as placas de Peyer subjacentes do sistema linfático.

Viremia é o nome dado ao transporte do vírus na corrente sanguínea. O vírus pode ou estar livre no plasma ou associado a linfócitos ou macrófagos. Os vírus fagocitados pelos macrófagos podem estar inativados, replicar ou ser carreados para outros tecidos. A replicação de um vírus em macrófagos, no revestimento endotelial de vasos sanguíneos ou no fígado pode causar a amplificação da infecção e iniciar o desenvolvimento de viremia secundária. Em muitos casos, uma viremia secundária antecede o envio dos vírus ao tecido-alvo (p. ex., fígado, cérebro, pele) e a manifestação dos sintomas específicos.

Os vírus podem ter acesso ao sistema nervoso central ou ao cérebro (1) pela corrente sanguínea (p. ex., encefalite porarbovírus); (2) pelas meninges ou pelo líquido cefalorraquidiano infectados; (3) pela migração de macrófagos infectados; ou (4) pela infecção de neurônios periféricos e sensoriais (olfatórios). As meninges são acessíveis a muitos dos vírus disseminados por viremia, as quais também podem fornecer acesso aos neurônios. Os vírus do herpes simples, da varicelazóster e da raiva infectam inicialmente as mucosas, a pele ou o músculo e só depois atingem o neurônio de inervação periférica, que transporta o vírus para o sistema nervoso central ou para o cérebro.

Patogênese Viral

Citopatogênese

As quatro consequências principais de uma infecção viral em uma célula são as seguintes (Quadro 37-3; Tabela 37-1):

1. Falha da infecção (infecção abortiva)



Quadro 37-3 Determinantes da Patogênese Viral

Interação do Vírus com o Tecido-alvo

Acesso do vírus ao tecido-alvo Estabilidade do vírus no corpo Temperatura e secura Ácido e bile do trato gastrointestinal Habilidade de cruzar a barreira da pele ou as células epiteliais mucosas (p. ex., cruza o trato gastrointestinal para a corrente sanguínea)

Habilidade de estabelecer viremia

Habilidade de disseminação através do sistema reticuloendotelial

Tecido-alvo

Especificidade na ligação entre receptores e proteínas virais

Expressão tecidual de receptores específicos

Atividade Citopatológica do Vírus

Eficiência de replicação viral na célula

Temperatura ótima para a replicação

Permissividade da célula para a replicação

Proteínas virais citotóxicas

Inibição da síntese de macromoléculas celulares

Acúmulo de proteínas e de estruturas virais (corpúsculos de inclusão)

Metabolismo celular alterado (p. ex., imortalização da célula)

Respostas Protetoras do Hospedeiro

Respostas antivirais inespecíficas

Interferon e citocinas

Células natural killer e macrófagos

Respostas imunes antígeno-específicas

Respostas das células T

Respostas mediadas por anticorpos

Mecanismos virais de escape das respostas imunes

Imunopatologia

Interferon: sintomas sistêmicos semelhantes aos da gripe

Respostas de células T: morte celular, inflamação

Anticorpo: complemento, citotoxicidade celular dependente de anticorpo, complexos imunes

Outras respostas inflamatórias



Tabela 37-1

Tipos de Infecções Virais em Nível Celular

Tipo	Produção Viral	Efeito na Célula		
Abortiva	ı	Sem efeito		
Citolítica	+	Morte		
Persistente	Persistente			
Produtiva	+	Senescência		
Latente	1	Sem efeito		
Transformadora				
Vírus de DNA	_	Imortalização		
Vírus de RNA	+	Imortalização		

- 2. Morte da célula (infecção lítica)
- 3. Replicação sem morte da célula (infecção persistente)
- 4. Presença de partículas virais sem replicação viral, mas com potencial para reativação (infecção latente-recorrente)

Os mutantes virais, que causam infecções abortivas, não se multiplicam e, portanto, desaparecem. As infecções persistentes podem ser (1) **crônicas** (não líticas, produtivas); (2) **latentes** (quantidade limitada de macromoléculas virais, mas sem síntese viral); (3) **recorrentes** (períodos de latência seguidos de produção de partículas virais); ou (4) **de transformação** (imortalizantes).

A natureza da infecção é determinada pelas características do vírus e da célula-alvo. Uma **célula não permissiva** pode não ter um receptor, uma via enzimática importante ou um ativador de transcrição, ou expressar um mecanismo antiviral que não permitirá a replicação de um tipo ou cepa de vírus. Por exemplo, neurônios e células que não se multiplicam não têm o maquinário e os substratos para a replicação de alguns vírus de DNA. Essas células também podem limitar a síntese proteica interna pela fosforilação de eIF- 2α (fator- 2α de iniciação de alongamento) para evitar a montagem dos ribossomos

sobre o RNAm, o qual é responsável pela conclusão da síntese proteica. Essa proteção pode ser desencadeada pelo aumento da síntese de proteína exigida durante a produção de novas partículas virais ou ativação do estado antiviral induzido por interferon (IFN)-α ou IFN-β. Os herpes-vírus e alguns outros vírus evitam esse processo ao inibirem a ação da enzima de fosforilação (proteína quinase R) ou ativando um processo de fosfatase celular proteica para remover o fosfato dos eIF-2α. Outro exemplo é a APOBEC3, uma enzima que causa a inativação da hipermutação do DNAc dos retrovírus. Esse é um mecanismo para restringir o crescimento dos numerosos retrovírus endógenos que são parte do cromossomo humano. A proteína do fator de infectividade do vírion (Vif) do vírus da imunodeficiência humana (HIV) supera esse bloqueio ao promover a degradação da APOBEC3.

Uma **célula permissiva** fornece o maquinário biossintético para dar suporte ao ciclo completo de replicação do vírus. A replicação do vírus em uma **célula semipermissiva** pode ser muito ineficiente, ou a célula pode suportar algumas, mas não todas as etapas da replicação viral.

A replicação do vírus pode iniciar alterações nas células que acarretam citólise ou alterações na aparência, propriedades funcionais ou antigenicidade da célula. Os efeitos sobre a célula podem ser resultado da síntese de macromoléculas virais, do acúmulo de proteínas ou partículas virais, da modificação ou rompimento das estruturas celulares ou da manipulação de funções celulares (Tabela 37-2).



Tabela 37-2

Mecanismos de Citopatogênese Viral

Mecanismo	Exemplos
Inibição da síntese da proteína celular	Poliovírus, vírus do herpes simples (HSV), togavírus, poxvírus
Inibição e degradação do DNA celular	Herpes-vírus
Alteração da estrutura da membrana celular	Vírus envelopados
Inserção de glicoproteínas virais	Todos os vírus envelopados
Formação de sincícios	HSV, vírus da varicela-zóster, paramixovírus, vírus da imunodeficiência humana
Rompimento de citoesqueleto	Vírus não envelopados (acúmulo), HSV
Permeabilidade	Togavírus, herpes-vírus
Toxicidade dos componentes do vírion	Fibras de adenovírus, proteína NSP4 do reovírus
Corpúsculos de Inclusão	Exemplos
Corpúsculos de Negri (intracitoplasmáticos)	Raiva
Basofílico intranuclear ("olhos de coruja")	Citomegalovírus (células aumentadas), adenovírus
Cowdry tipo A (intranuclear)	HSV, vírus da panencefalite esclerosante subaguda (sarampo)
Acidofílicos intracitoplasmáticos	Poxvírus
Acidofílicos citoplasmáticos perinucleares	Reovírus

Infecções Líticas

Infecções líticas se desenvolvem quando a replicação do vírus resulta na destruição da célula-alvo. Alguns vírus impedem o crescimento e o reparo, inibindo a síntese de macromoléculas celulares, ou produzindo enzimas de degradação e proteínas tóxicas. Por exemplo, o HSV e outros vírus produzem proteínas que inibem a síntese do DNA celular e do RNAm e sintetizam outras proteínas que degradam o DNA do hospedeiro disponibilizando componentes celulares para a replicação do genoma viral. A síntese das proteínas celulares pode ficar bloqueada ativamente (p. ex., o poliovírus inibe a tradução do RNAm dependente na extremidade *cap* 5′) ou passivamente (p. ex., pela produção de boa parte do RNAm viral que compete por ribossomos) (Cap. 36).

A replicação do vírus e o acúmulo de componentes virais e da progênie viral no interior da célula podem romper a estrutura e o funcionamento da célula ou romper os lisossomos, causando a morte celular. A expressão de antígenos virais na superfície da célula e o rompimento do citoesqueleto podem alterar as interações intercelulares e a aparência da célula, tornando-a um alvo para a citólise imune. Os ácidos nucleicos virais no citoplasma podem ativar os receptores de padrões moleculares associados a patógenos (PAMP) para ativar as respostas de inflamassomos, citocinas e interferon, que podem limitar a replicação do vírus.

A infecção viral ou as respostas citolíticas imunes podem induzir a **apoptose** na célula infectada. Apoptose é uma cascata de eventos predefinidos que, quando desencadeada, resulta em morte celular. Esse processo pode facilitar a liberação do vírus da célula, mas também limita a quantidade de vírus produzidos ao destruir a "fábrica" viral. Como resultado, *muitos* vírus (p. ex., herpes-vírus, adenovírus, vírus da hepatite C) codificam métodos para inibir a apoptose.

A expressão das glicoproteínas de alguns paramixovírus, herpes-vírus e retrovírus, na superfície celular desencadeia a fusão das células vizinhas, originando **células gigantes multinucleadas** chamadas **sincícios**. A fusão célula a célula pode ocorrer na falta de nova síntese proteica (fusão a partir de fora), como ocorre nas infecções com o vírus Sendai e com outros paramixovírus, ou pode exigir uma nova síntese proteica (fusão a partir de dentro), como ocorre na infecção por HSV. A formação de sincícios permite que a infecção viral se dissemine de uma célula para outra e escape da detecção pelos anticorpos. Os sincícios podem ser frágeis e suscetíveis à lise, e aqueles que se formam na infecção com o HIV também causam a morte das células.

Algumas infecções virais ocasionam alterações características na aparência e nas propriedades das células-alvo. Por exemplo, aberrações e degradação cromossômicas podem ocorrer e ser detectadas a partir da coloração histológica (p. ex., cromatina marginada ao redor da membrana nuclear nas células infectadas por HSV e por adenovírus). Além disso, estruturas novas e passíveis de coloração, chamadas **corpúsculos de inclusão**, podem aparecer dentro do núcleo ou do citoplasma. Essas estruturas podem resultar de alterações induzidas por vírus na membrana ou estrutura cromossômica ou podem representar os pontos de replicação viral ou, ainda, o acúmulo de capsídeos virais. Como a natureza e a localização desses corpúsculos de inclusão são características de infecções virais específicas, sua presença facilita o diagnóstico laboratorial (Tabela 37-2). A infecção viral também pode causar vacuolização, arredondamento das células e outras alterações histológicas não específicas que são características de células infectadas.

Infecções não Líticas

Infecção persistente é aquela que ocorre em uma célula infectada que não é destruída pelo vírus. Alguns vírus causam infecção persistente produtiva porque o vírus é liberado gradualmente da célula por meio de exocitose ou brotamento (muitos vírus envelopados) a partir da membrana plasmática. Pensando como um parasita, o vírus não quer matar a célula, porque quanto mais tempo a célula permanecer viva, mais tempo o vírus permanece no corpo e mais vírus são produzidos para disseminar-se a outras células ou indivíduos.

Infecção latente é aquela que resulta da infecção com vírus de DNA de uma célula que restringe ou perde o maquinário para a transcrição de todos os genes virais, ou o vírus pode codificar funções que suprimem a replicação viral (p. ex., citomegalovírus) para estender o seu parasitismo. Os fatores de transcrição específicos exigidos por esse tipo de vírus podem ser expressos somente em tecidos específicos e em células em crescimento, mas não em repouso, ou após a indução de hormônio ou citocina. Por exemplo, o HSV estabelece uma infecção latente em neurônios que perdem os fatores nucleares exigidos para transcrever os genes virais precoces imediatos, mas o estresse e outros estímulos podem ativar as células para permitir a replicação viral.

Vírus Oncogênicos

Alguns vírus de DNA e retrovírus estabelecem infecções persistentes que também podem estimular o crescimento celular descontrolado, causando a **transformação** ou **imortalização** da célula (Fig. 37-2). As características das células transformadas incluem crescimento contínuo sem envelhecimento, alterações na morfologia e no metabolismo celular, taxa aumentada de crescimento celular e de transporte de açúcar, perda de inibição de crescimento por contato celular e habilidade de crescer em suspensão ou agrupar-se, quando as células são cultivadas em meio de ágar semissólido.

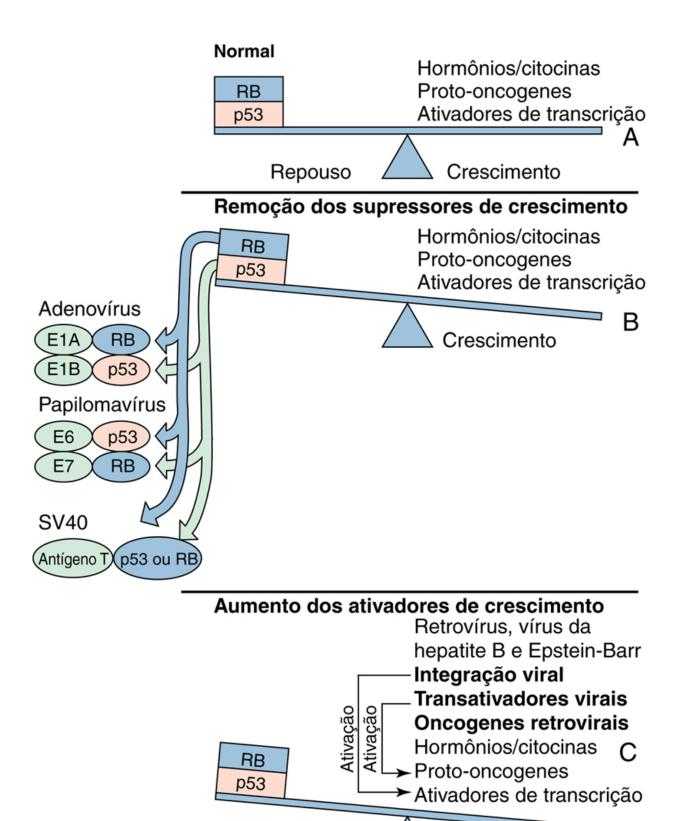


FIGURA 37-2 Mecanismos de transformação e de imortalização viral. O crescimento celular é controlado (A) pela manutenção do equilíbrio nos ativadores de crescimento externo e interno (aceleradores) e por supressores de crescimento, como os produtos genéticos p53 e do retinoblastoma (RB) (redutores). Os vírus oncogênicos alteram o equilíbrio removendo estes redutores (B) ou intensificando os efeitos dos aceleradores (C).

Crescimento

Diferentes vírus **oncogênicos** apresentam mecanismos diferentes para imortalização de células. Os vírus imortalizam as células (1) ativando ou fornecendo genes de estimulação de crescimento, (2) removendo os mecanismos inerentes de interrupção da síntese do DNA e do crescimento celular; (3) evitando a apoptose ou (4) proporcionando ou induzindo citocinas estimulantes do crescimento. A imortalização por vírus de DNA ocorre em células semipermissivas, que expressam somente alguns genes virais específicos, mas que não produzem vírus. A síntese do DNA viral, do RNAm tardio, de proteínas tardias ou da partícula viral completa provoca morte da célula, impedindo a imortalização. Vários vírus de DNA com potencial oncogênico se integram ao cromossomo da célula hospedeira. Os papilomavírus, o víru SV40 e os adenovírus codificam proteínas que se ligam e inativam as proteínas reguladoras do crescimento celular, como a p53 e o

produto do gene do retinoblastoma, liberando o crescimento desenfreado das células. A perda da p53 também torna a célula mais suscetível à mutação. O vírus Epstein-Barr imortaliza as células B ao estimular o crescimento celular (como um mitógeno de célula B) e ao induzir a expressão do oncogene *bcl*-2 da célula, que previne a morte celular programada (apoptose).

Os retrovírus (vírus de genoma RNA) usam dois mecanismos para a oncogênese. Alguns oncovírus codificam proteínas **oncogênicas** (p. ex., SIS, RAS, SRC, MOS, MYC, JUN, FOS) que são quase idênticas às proteínas celulares envolvidas no controle de crescimento celular (p. ex., os componentes de uma cascata de sinal de fator de crescimento [receptores, proteínas G, proteínas quinase] ou fatores de transcrição de regulação de crescimento). A produção exagerada ou a função alterada desses produtos de oncogene estimulam o crescimento celular. Esses vírus oncogênicos causam a formação rápida de tumores. Entretanto, nenhum retrovírus humano desse tipo foi identificado até o momento.

O vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1), o único retrovírus oncogênico humano identificado até o momento, usa mecanismos mais sutis de leucemogênese. Esses vírus codificam uma proteína (TAX) que ativa a expressão dos genes, incluindo os genes para as citocinas de estimulação do crescimento (p. ex., a interleucina [IL]-2). Esse é o segundo mecanismo de oncogênese. A integração da cópia do DNA do HTLV-1 próximo ao gene de estimulação de crescimento celular também pode provocar a ativação do gene pelas potentes sequências virais intensificadoras e promotoras codificadas em cada extremidade do genoma viral (sequências LTR). As leucemias associadas a HTLV-1 desenvolvem-se lentamente, ocorrendo de 20 a 30 anos após a infecção. Os retrovírus continuam a produzir vírus em células imortalizadas ou transformadas.

Alguns vírus podem iniciar a formação de tumores indiretamente. O vírus da hepatite B (HBV) e o vírus da hepatite C (HCV) podem ter mecanismos para a oncogênese direta; entretanto, ambos os vírus estabelecem infecções persistentes que exigem reparo tecidual significativo. O processo inflamatório crônico e a estimulação contínua de crescimento e reparo de células hepáticas podem promover mutações que levam à formação de tumores. O herpes-vírus humano 8 (HHV8) promove o desenvolvimento do sarcoma de Kaposi por meio de citocinas de promoção de crescimento codificadas pelos vírus; essa doença ocorre mais frequentemente em pacientes imunocomprometidos, como os com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS).

A transformação viral é o primeiro passo, mas, em geral, não é suficiente para causar a oncogênese e a formação do tumor. Em vez disso, com o tempo, as células imortalizadas têm mais probabilidade que as normais de acumular outras mutações ou rearranjos cromossômicos que resultam no desenvolvimento de células tumorais. As células imortalizadas também podem ser mais suscetíveis a cofatores e promotores de tumor (p. ex., ésteres de forbol, butirato) que intensificam a formação tumoral. Aproximadamente 15% dos cânceres humanos podem ser relacionados a vírus oncogênicos como HTLV-1, HBV e HCV, papilomavírus 16 e 18, HHV8 e vírus de Epstein-Barr. O HSV-2 também pode ser um cofator para o câncer cervical humano.

Defesas do Hospedeiro contra a Infecção Viral

Os objetivos finais das respostas antivirais inatas e imunes do hospedeiro são os de prevenir a entrada e a disseminação e eliminar os vírus e as células infectadas (**resolução**). A resposta imune é a melhor e, na maioria dos casos, o único meio de controlar a infecção viral. As respostas inata, imune e humoral são importantes para a imunidade antiviral. Quanto mais o vírus se replica no organismo, maior a disseminação da infecção, maior a intensidade da resposta imune necessária para controlar essa infecção, e maior o potencial para a imunopatogênese. O interferon e as respostas das células T citotóxicas são os principais mecanismos iniciais de defesa antiviral. O Capítulo 10 apresenta uma descrição detalhada da resposta imune antiviral.

A pele é a melhor barreira de defesa contra a infecção viral. Os orifícios do corpo (p. ex., boca, olhos, nariz, orelhas e ânus) são protegidos por muco, epitélio ciliado, lágrimas, ácido gástrico e bile do trato gastrointestinal e IgA secretada. Depois que o vírus ultrapassa essas barreiras naturais, são ativados mecanismos de defesa inespecíficos do hospedeiro (resposta inata) (p. ex., febre, interferon, macrófagos, células dendríticas, células *natural killer* [NK]), que têm o objetivo de limitar e controlar a replicação local e a disseminação do vírus. Ao contrário das bactérias, a resposta inata é desencadeada pelas células infectadas ou contra as células infectadas, e a resposta inicial é mais provável de ser mediada pelo interferon e citocinas (sintomas semelhantes aos da gripe), em vez de inflamação mediada pelo complemento e neutrófilos. As moléculas virais, incluindo o RNA de dupla fita (que é o intermediário replicativo dos vírus de genoma RNA), certas formas de DNA e o RNA de fita simples, além de algumas glicoproteínas virais, ativam a produção de interferon do tipo I e respostas celulares inatas por meio da interação com receptores citoplásmicos ou os receptores *Toll-like* (TLRs) em endossomos. *A resposta inata evita que a maioria das infecções virais resulte em doença*.

As respostas imunes antígeno-específicas levam vários dias para serem ativadas e se tornarem efetivas. O objetivo dessas respostas protetoras é debelar a infecção eliminando todos os vírus das células infectadas do corpo. O anticorpo é eficaz contra vírus no meio extracelular e pode ser suficiente para controlar vírus citolíticos, pois a fonte de novos vírions é eliminada com a lise da célula infectada. O anticorpo é essencial para controlar a disseminação do vírus para tecidos-alvo por meio de viremia. A imunidade mediada por células é necessária para a destruição de células infectadas por vírus não citolíticos (p. ex., vírus da hepatite A) e infecções causadas por vírus envelopados.

A proteção criada por imunidade prévia é fornecida por células de memória B e T, que determinam uma resposta precoce e mais eficaz que a realizada durante a infecção primária. Essa proteção pode não evitar os estágios iniciais da infecção, mas, na maioria dos casos, previne a progressão da doença. Assim, em uma segunda infecção pelo mesmo agente viral, as

respostas mediadas pela célula são mais eficazes em limitar a disseminação local do vírus, e os anticorpos do soro podem evitar a disseminação virêmica. As respostas secundárias se desenvolvem muito mais rapidamente e são mais eficazes que as primárias; essa é a base para o desenvolvimento dos programas de vacinação.

Muitos vírus, especialmente os maiores, têm meios de escapar de um ou mais aspectos do controle imune (ver Cap. 10, Tabela 10-3). Esses mecanismos incluem evitar a ação do interferon, alterar os antígenos virais, disseminar-se por transmissão célula a célula para escapar dos anticorpos e suprimir a função de células apresentadoras de antígenos e linfócitos. O HSV consegue manter sua replicação e síntese proteica impedindo as consequências do estado antiviral induzido por IFN- α e IFN- β . A inibição da expressão do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) I pelo citomegalovírus e pelo adenovírus evita a destruição das células infectadas pelas células T. A variação antigênica que ocorre ao longo dos anos no vírus da influenza (*shift* e *drift* antigênico) ou durante a vida de um indivíduo infectado com HIV limita a eficácia antiviral do anticorpo. A falha em resolver a infecção pode provocar infecção persistente, doença crônica ou morte do paciente.

Imunopatologia

A hipersensibilidade e as reações inflamatórias iniciadas por imunidade antiviral podem ser a causa principal das manifestações e patologias e sintomas das infecções virais (Tabela 37-3). Respostas precoces ao vírus e à infecção viral (p. ex., interferons, citocinas) podem iniciar respostas inflamatórias locais e sistêmicas. Por exemplo, o interferon e as citocinas estimulam sintomas sistêmicos semelhantes aos da gripe (p. ex., febre, mal-estar, cefaleia) geralmente associados com *infecções virais respiratórias e viremias* (p. ex., vírus da arboencefalite). Esses sintomas geralmente precedem (pródromo) os sintomas característicos da infecção viral durante o estágio virêmico. Algumas infecções virais induzem ampla resposta de citocinas (tempestade de citocinas) e desencadeiam doenças autoimunes em indivíduos com predisposição genética. Posteriormente, os complexos imunes e a ativação do complemento (via clássica), a hipersensibilidade do tipo IV induzida por células T CD4 e a ação de células T CD8 citolíticas podem induzir dano ao tecido. Essas ações geralmente promovem infiltração de neutrófilos e aumentam o dano celular.



Tabela 37-3

Imunopatogênese Viral

Imunopatogênese	Mediadores Imunes	Exemplos
Sintomas semelhantes aos da gripe	Interferon, citocinas	Vírus respiratórios, arbovírus (vírus que induzem viremia)
Hipersensibilidade e inflamação do tipo IV	Células T, macrófagos e leucócitos polimorfonucleares	Vírus envelopados
Doença por imunocomplexos	Anticorpos, complemento	Vírus da hepatite B, rubéola
Doença hemorrágica	Célula T, anticorpo, complemento	Febre amarela, dengue, febre de Lassa, vírus Ebola
Citólise pós-infecção	Células T	Vírus envelopados (p. ex., encefalite pós-sarampo)
Tempestade de citocinas	Células apresentadoras de antígenos, células T, citocinas	Vírus envelopados e outros
Imunossupressão	Células T, macrófagos, células dendríticas	Vírus da imunodeficiência humana, citomegalovírus, vírus do sarampo, vírus da influenza

A resposta inflamatória iniciada pela imunidade celular é difícil de controlar e danifica os tecidos. As infecções causadas por vírus envelopados, em especial, induzem resposta imune celular produzindo, em geral, condições imunopatológicas mais extensas. Por exemplo, os sintomas clássicos do sarampo e da caxumba resultam de **respostas inflamatórias induzidas por células T** e não dos efeitos citopatológicos do vírus. A presença de grandes quantidades de antígenos no sangue durante as viremias ou infecções crônicas (p. ex., infecção por HBV) pode iniciar **reações clássicas de hipersensibilidade do complexo imune do tipo III**. Os **complexos imunes** contendo vírus ou antígeno viral podem ativar o sistema do complemento, desencadeando respostas inflamatórias e destruição dos tecidos. Esses complexos imunes se acumulam, com frequência, nos rins e causam glomerulonefrite.

No caso do vírus da dengue e do sarampo, a imunidade parcial a um vírus relacionado ou inativado pode resultar em resposta mais intensa do hospedeiro e doença no desafio subsequente com um vírus relacionado ou virulento. Isso ocorre porque as respostas das células T específicas para o antígeno e dos anticorpos são intensificadas e induzem danos inflamatórios e de hipersensibilidade significativos às células endoteliais infectadas (**febre hemorrágica da dengue**) ou à pele e ao pulmão (**sarampo atípico**). Além disso, um anticorpo não neutralizante pode facilitar a captação dos vírus da dengue e da febre amarela para os macrófagos por meio dos receptores Fc, nos quais os vírus podem se replicar.

Em geral, as crianças apresentam resposta imune celular menos ativa (p. ex., células NK) que a dos adultos e, portanto, geralmente apresentam sintomas mais leves durante as infecções por alguns vírus (p. ex., vírus do sarampo, da caxumba,

Epstein-Barr e varicela-zóster). Entretanto, no caso do vírus da hepatite B, sintomas leves ou ausentes se relacionam com inabilidade do corpo em resolver a infecção, resultando em doença crônica.

Doença Viral

A relativa suscetibilidade de uma pessoa a uma infecção viral e a intensidade da doença dependem dos seguintes fatores:

- 1. Mecanismo de exposição e local da infecção
- 2. Estado do sistema imune, idade e saúde geral da pessoa
- 3. Dose viral
- 4. Genética do vírus e do hospedeiro

Uma vez infectado o hospedeiro, sua competência e estado imunológico são, provavelmente, os principais fatores que determinam se uma infecção viral provocará uma doença potencialmente fatal, uma evolução benigna ou ausência total de sintomas.

Na Figura 37-1C mostram-se os estágios da doença viral. Durante o **período de incubação**, o vírus está se replicando, mas ainda não atingiu o tecido-alvo, nem induziu dano suficiente para causar a doença. *O período de incubação é relativamente curto se o ponto primário de infecção é o tecido-alvo e produz os sintomas característicos da doença. Períodos de incubação mais longos ocorrem quando o vírus precisa se disseminar para outros pontos e ser amplificado antes de atingir o tecido-alvo, ou quando os sintomas são causados por respostas imunopatológicas.* Sintomas não específicos ou semelhantes aos da gripe podem preceder os sintomas característicos durante o **pródromo**. Os períodos de incubação para muitas infecções virais comuns são apresentados na Tabela 37-4. As doenças virais específicas são discutidas nos capítulos subsequentes e revisadas no Capítulo 38.



Tabela 37-4

Períodos de Incubação de Infecções Virais Comuns

Doença	Período de Incubação (Dias)*
Influenza	1-2
Resfriado comum	1-3
Herpes simples	2-8
Bronquiolite, crupe	3-5
Doença respiratória aguda (adenovírus)	5-7
Dengue	5-8
Enterovírus	6-12
Poliomielite	5-20
Sarampo	9-12
Varíola	12-14
Varicela	13-17
Caxumba	16-20
Rubéola	17-20
Mononucleose	30-50
Hepatite A	15-40
Hepatite B	50-150
Raiva	30-100+
Papilomavírus (verrugas)	50-150
Vírus da imunodeficiência humana	1-15 anos
AIDS	1-10 anos

Modificado de White DO, Fenner F: Medical virology, ed 3, New York, 1986, Academic.

A natureza e a gravidade dos sintomas de uma doença viral estão relacionadas com a função do tecido-alvo infectado (p. ex., fígado, hepatite; cérebro, encefalite) e a extensão das respostas imunopatológicas desencadeadas pela infecção. **Infecções inaparentes** ocorrem quando: (1) o tecido infectado não é lesado; (2) a infecção é controlada antes de o vírus atingir o tecido-alvo; (3) o tecido-alvo é composto por células de rápido ciclo celular; (4) o tecido-alvo é reparado rapidamente; ou (5) a extensão do dano é inferior ao limiar funcional para aquele tecido em particular. Por exemplo, muitas

^{*} Até a manifestação inicial dos sintomas prodrômicos. Sinais diagnósticos (p. ex., exantema, paralisia) podem não aparecer até 2-4 dias mais tarde.

infecções do cérebro não são aparentes ou estão abaixo do limiar de perda grave de função, mas se a perda de função se tornar significativa, ocorrerá encefalite. Apesar da ausência de sintomas, os anticorpos específicos contra o vírus serão produzidos. As infecções inaparentes ou assintomáticas são as principais fontes de contágio.

As infecções virais podem causar **doença aguda** ou **crônica** (**infecção persistente**). A habilidade e a rapidez do sistema imune de uma pessoa em controlar e resolver uma infecção viral normalmente determinam se ocorre doença aguda ou crônica, assim como a intensidade dos sintomas (Fig. 37-3). O episódio agudo de infecção persistente pode ser assintomático (p. ex., poliomavírus JC) ou pode causar, tardiamente, sintomas similares (p. ex., varicela e zóster) ou diferentes (HIV: aguda *versus* AIDS) daqueles da doença aguda. **Vírus associados com infecções lentas e príons** apresentam períodos de incubação longos, durante os quais se acumula destruição suficiente de vírus ou de tecidos antes de rápida progressão dos sintomas.

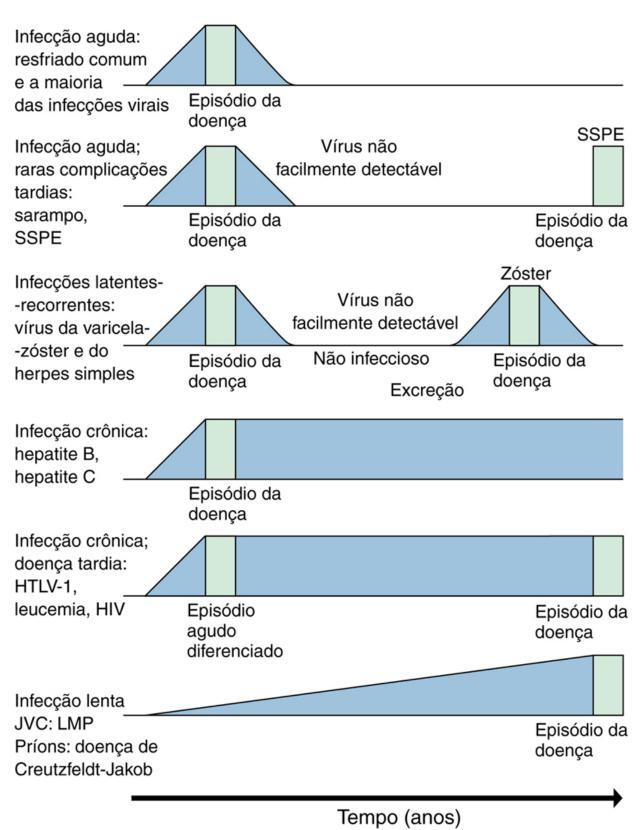


FIGURA 37-3 Infecção aguda e vários tipos de infecções persistentes, conforme ilustrado pelas doenças indicadas na coluna da esquerda. O *azul* representa a presença do vírus; o *verde* indica o episódio de doença. *HIV*, Vírus da imunodeficiência humana; *HTLV-1*, vírus linfotrópico de célula T humana tipo 1; *JCV*, vírus JC; *LMP*, leucoencefalopatia progressiva multifocal; *SSPE*, panencefalite esclerosante subaguda. (Modificado de White DO, Fenner FJ: *Medical virology*, ed 3, New York, 1986, Academic.)

Epidemiologia

A epidemiologia estuda a disseminação da doença em uma população. A infecção de uma população é similar àquela de uma pessoa, pois o vírus precisa se espalhar e ser controlado pela imunização da população (Quadro 37-4). Para se manter em circulação na natureza, os vírus precisam continuar a infectar novos hospedeiros imunologicamente suscetíveis.



Mecanismos de Transmissão Viral[†]

Aerossóis

Alimentos, água

Fômites (p. ex., tecidos, roupas)

Contato direto com secreções (p. ex., saliva, sêmen)

Contato sexual, parto

Transfusão de sangue ou transplante de órgão

Zoonoses (animais, insetos [arbovírus])

Genética (vertical) (p. ex., retrovírus)

Doença e Fatores Virais que Promovem a Transmissão

Estabilidade do vírion em resposta ao meio ambiente (p. ex., secagem, detergentes, temperatura)

Replicação e secreção de vírus em aerossóis e secreções transmissíveis (p. ex., saliva, sêmen)

Transmissão assintomática

Transitoriedade ou ineficácia da resposta imune para controlar reinfecção ou recorrência

Fatores de Risco

Idade

Saúde

Estado imune

Profissão: contato com agente ou vetor

História de viagem

Estilo de vida

Crianças em creches

Atividade sexual

Tamanho Crítico da Comunidade

Pessoas suscetíveis, soronegativas

Distribuição Geográfica e Sazonalidade

Presença de cofatores ou vetores no meio ambiente

Habitat e estação do ano para vetores artrópodes (mosquitos)

Sala de aula: proximidade e aglomeração

Inverno (reclusão das pessoas em casa com aquecimento doméstico)

Modos de Controle

Quarentena

Eliminação do vetor

Imunização

Vacinação

Tratamento

Educação

Exposição

As pessoas são expostas a vírus durante toda a vida. Entretanto, algumas profissões, condutas e estilos de vida aumentam a probabilidade do contato com certos vírus. Por outro lado, muitos vírus são ubíquos. A exposição prévia a HSV-1, HHV-6, vírus da varicela-zóster, parvovírus B19, Epstein-Barr e a muitos vírus respiratórios e entéricos pode ser detectada na maioria das crianças ou no início da vida adulta pela presença de anticorpos para esses vírus.

Maus hábitos de higiene e condições de superpopulação na comunidade, na escola e no trabalho promovem a exposição a vírus respiratórios e entéricos. Os centros de atendimento ambulatorial e creches são fontes de infecções virais, especialmente pelos vírus disseminados por via respiratória e fecal-oral. Viagens e atividades profissionais que mantêm as pessoas em contato com vetores de vírus (p. ex., mosquitos) as expõem a risco de infecção por arbovírus e outras zoonoses. A promiscuidade sexual também promove a disseminação e a aquisição de vários vírus. Profissionais da saúde como médicos, dentistas, enfermeiros e técnicos também são expostos, com frequência, a vírus respiratórios e outros, e estão

^{*} Infecção da população em vez de uma pessoa.

[†] Consulte também a Tabela 37-5.

peculiarmente expostos a vírus a partir do contato com sangue contaminado (p. ex., HBV, HIV) ou fluidos vesiculares (p. ex., HSV).

Transmissão Viral

Os vírus são transmitidos por contato direto (incluindo o contato sexual), por injeção com fluidos ou sangue contaminado, pelo transplante de órgãos e pelas vias respiratória e fecal-oral (Tabela 37-5). A via de transmissão depende da fonte do vírus (o tecido-alvo da replicação e secreção viral) e da habilidade do vírus em cruzar as barreiras do meio ambiente e do corpo em seu caminho para o tecido-alvo. Por exemplo, os vírus que se replicam no trato respiratório (p. ex., vírus da influenza A) são liberados em gotículas na forma de aerossol, enquanto os vírus entéricos (p. ex., picornavírus e reovírus) são transmitidos pela via fecal-oral. O citomegalovírus é transmitido pela maioria das secreções corporais, pois infecta as células mucoepiteliais, secretoras e outras células encontradas na pele, nas glândulas secretoras, pulmões, fígado e outros órgãos.



Tabela 37-5

Transmissão Viral

Modo	Exemplos
Transmissão respiratória	Paramixovírus, vírus da influenza, picornavírus, rinovírus, vírus da varicela-zóster, vírus B19
Transmissão fecal-oral	Picornavírus, rotavírus, reovírus, norovírus, adenovírus
Contato (lesões, saliva, fômites)	HSV, rinovírus, poxvírus, adenovírus
Zoonoses (animais, insetos)	Togavírus (alfa), flavivírus, buniavírus, orbivírus, arenavírus, hantavírus, vírus da raiva, vírus da influenza A, vírus orf (pox)
Transmissão pelo sangue	HIV, HTLV-1, HBV, HCV, vírus da hepatite delta, citomegalovírus
Contato sexual	Vírus transmitidos pelo sangue, HSV, papilomavírus humano, molusco contagioso, HIV, HTLV-1, HBV, HCV
Transmissão materno- neonatal	Vírus da rubéola, citomegalovírus, vírus B19, ecovírus, HSV, vírus da varicela-zóster, HIV
Genética	Príons, retrovírus

HBV, Vírus da hepatite B; HCV, vírus da hepatite C; HIV, vírus da imunodeficiência humana; HSV, vírus do herpes simples; HTLV-1, vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1

Presença ou ausência do envelope é o principal determinante estrutural do modo de transmissão viral. Os vírus não envelopados podem resistir ao dessecamento, ao efeito de detergentes e aos extremos de pH e de temperatura, o que nem sempre acontece com os vírus envelopados (Cap. 36, Quadro 36-4). Especificamente, a maioria dos vírus não envelopados pode resistir ao meio ambiente ácido do estômago e à bile dos intestinos, semelhante a um detergente, à desinfecção leve e ao tratamento insuficiente dos esgotos. Esses vírus são transmitidos geralmente pelas vias respiratória e fecal-oral e podem, com frequência, ser adquiridos de objetos contaminados (fômites). Por exemplo, o vírus da hepatite A, um picornavírus, é um vírus não envelopado transmitido pela via fecal-oral, podendo ser adquirido de água contaminada, frutos do mar e outros alimentos. Os adenovírus e muitos outros vírus não envelopados podem ser disseminados por contato com fômites, como lenços e brinquedos.

Diferentemente dos vírus não envelopados mais resistentes, a maioria dos vírus envelopados é comparativamente frágil (Cap. 36, Quadro 36-5). Seu envelope deve estar intacto para que sejam infecciosos. Assim, esses vírus precisam permanecer em locais úmidos e são disseminados (1) em gotículas respiratórias, sangue, muco, saliva e sêmen, (2) por meio de injeção, ou (3) em transplantes de órgãos. A maioria dos vírus envelopados também é instável ao tratamento com ácidos e detergentes, um aspecto que impede sua transmissão pela via fecal-oral. As exceções são o HBV e os coronavírus.

Animais e insetos também podem atuar como **vetores** que disseminam a doença viral a outros animais e seres humanos e até mesmo a outras localidades. Eles podem atuar como **reservatórios** para os vírus, mantendo-os e amplificando-os no meio ambiente. As doenças virais que são compartilhadas por animais ou insetos e seres humanos são chamadas de **zoonoses**. Por exemplo, guaxinins, raposas, morcegos, cães e gatos são vetores para o vírus da raiva. Artrópodes (p. ex., mosquitos, carrapatos, mosquitos-pólvora) podem agir como vetores para togavírus, flavivírus, buniavírus e reovírus. Esses vírus são frequentemente chamados de **arbovírus**, pois são transmitidos por artrópodes (*arthropod borne*). O Capítulo 52 apresenta discussão mais detalhada sobre arbovírus. A maioria dos arbovírus tem faixa muito ampla de hospedeiros suscetíveis, sendo capazes de se replicar em insetos específicos, pássaros, anfíbios e mamíferos, além de seres humanos. Além disso, os arbovírus devem estabelecer um estado de viremia suficiente no reservatório animal, de modo que o inseto, durante a sucção sanguínea, possa adquirir o vírus.

Outros fatores que podem promover a transmissão de vírus são potenciais para a infecção assintomática, como condições de moradia em conglomerado, determinadas profissões, certos estilos de vida, centros de atendimento médico ambulatorial e viagens. A transmissão viral pode ocorrer durante infecção assintomática (p. ex., HIV, vírus da varicelazóster), o que dificulta o controle da disseminação viral. Essa é uma característica importante das **doenças sexualmente**

transmitidas. Os vírus que causam infecções produtivas persistentes (p. ex., citomegalovírus, HIV) constituem um problema especial, pois a pessoa infectada é fonte contínua de vírus que podem ser transmitidos para pessoas sem imunidade prévia. Os vírus com muitos sorotipos diferentes (rinovírus) ou aqueles capazes de alterar sua antigenicidade (influenza e HIV) também encontram rapidamente populações imunologicamente suscetíveis.

Manutenção de um Vírus na População

A persistência de um vírus na comunidade depende da presença de um número crítico de pessoas suscetíveis e sem memória imunológica (soronegativas). A eficiência da transmissão do vírus determina o tamanho da população suscetível necessária para a manutenção desse vírus na população. A imunização, por meios naturais ou por vacinação, é a melhor maneira de reduzir o número dessas pessoas suscetíveis.

Idade

A idade é fator importante na determinação da suscetibilidade às infecções virais. Bebês, crianças, adultos e idosos são suscetíveis a vírus diferentes e apresentam respostas sintomáticas diferentes à infecção. Essas diferenças podem resultar de variações no tamanho corporal, nas habilidades de recuperação e, o mais importante, na situação de imunidade das pessoas nesses grupos etários. Diferenças em estilos de vida, hábitos, ambiente escolar e de trabalho nas diferentes idades também determinam quando as pessoas estão expostas aos vírus.

Os bebês e as crianças adquirem várias doenças virais respiratórias e exantematosas na primeira exposição, pois não têm imunidade prévia. Os bebês estão especialmente mais propensos a apresentações mais graves de infecções respiratórias por paramixovírus e gastroenterites virais por causa de seu tamanho corporal e exigências fisiológicas (p. ex., nutrientes, água, eletrólitos). Entretanto, as crianças geralmente não montam uma resposta imunopatológica tão intensa quanto os adultos, e algumas doenças (como as causadas pelos herpesvírus) são mais benignas nas crianças.

Os idosos são especialmente suscetíveis às novas infecções virais e à reativação de vírus latentes. Já que são menos capazes de iniciar nova resposta imune, de reparar o dano tecidual e de se recuperar, os idosos se tornam, portanto, mais suscetíveis às complicações após a infecção e a surtos de novas cepas dos vírus da influenza A e B. Os idosos também estão mais suscetíveis ao herpes-zóster (cobreiro), que é uma recorrência do vírus da varicela-zóster, resultante de declínio na resposta imune específica nessa faixa etária.

Estado Imunológico

A competência da resposta imune de uma pessoa e seu histórico imunológico determinam a rapidez e a eficiência com que a infecção é resolvida e também podem determinar a gravidade dos sintomas. A reexposição de uma pessoa a um vírus para o qual possua imunidade prévia geralmente resulta em infecção assintomática ou moderada e sem transmissão viral. Pessoas que se encontram em estado de imunossupressão como resultado de AIDS, câncer ou terapia imunossupressora estão em risco maior de sofrer doenças mais sérias na infecção primária (sarampo, vacínia) e são mais suscetíveis à recorrência de infecções com vírus latentes (p. ex., herpes-vírus, papovavírus).

Outros Fatores do Hospedeiro

O estado de saúde geral da pessoa desempenha papel importante na determinação da competência e da natureza da resposta imune e da habilidade de reparar danos teciduais. A má nutrição pode comprometer o sistema imune de uma pessoa e reduzir sua capacidade de regenerar tecidos. O sarampo torna-se muito mais letal para os indivíduos deficientes em vitamina A, possivelmente devido a uma ação anti-inflamatória da vitamina A. As doenças e as terapias imunossupressoras podem permitir que a replicação viral ou a recorrência se desenvolvam sem serem combatidas. A constituição genética também exerce papel importante em determinar a resposta do sistema imune à infecção viral. Especificamente, as diferenças genéticas em genes de resposta imune, em genes para receptores virais e em outros *loci* genéticos afetam a suscetibilidade a uma infecção viral e a gravidade da doença.

Considerações Geográficas e Sazonais

A distribuição geográfica de um vírus é geralmente determinada pela presença dos cofatores ou vetores requeridos ou pela existência de uma população suscetível e sem imunidade prévia. Por exemplo, muitos dos arbovírus são limitados ao nicho ecológico de seus vetores artrópodes. O transporte global intenso está eliminando muitas das restrições à distribuição viral determinada geograficamente.

As diferenças sazonais na ocorrência da doença viral correspondem aos comportamentos que promovem a disseminação do vírus. Por exemplo, os vírus respiratórios prevalecem mais no inverno, pois as aglomerações facilitam a disseminação, e as condições de temperatura e de umidade estabilizam os vírus disseminados. Os vírus entéricos, por outro lado, prevalecem no verão, possivelmente porque os hábitos de higiene ficam mais relaxados nesse período. As diferenças sazonais em doenças por arbovírus refletem o ciclo de vida do vetor artrópode ou de seu reservatório (p. ex., os pássaros).

Surtos, Epidemias e Pandemias

Os surtos de uma infecção viral geralmente resultam da introdução de um vírus (p. ex., hepatite A) em uma nova localidade. O surto se origina de uma fonte comum (p. ex., preparação de alimentos) e, com frequência, pode ser contido uma vez identificada a fonte. Os surtos de norovírus em navios de cruzeiro ou restaurantes muitas vezes podem ser rastreados até às mãos sujas de um empregado. As epidemias ocorrem em uma área geográfica maior e resultam da introdução de uma nova cepa de um vírus em uma população sem imunidade prévia. As pandemias são epidemias mundiais, resultantes geralmente da introdução de um novo vírus (p. ex., o HIV). As pandemias do vírus da influenza A costumavam ocorrer aproximadamente a cada 10 anos como resultado da introdução de novas variantes do vírus.

Controle da Disseminação Viral

A disseminação de um vírus pode ser controlada por quarentena, adoção de boas práticas de higiene, mudanças no estilo de vida, eliminação do vetor ou imunização da população. A **quarentena**, inicialmente o único meio de limitar as epidemias de infecções virais, é mais eficaz para limitar a disseminação dos vírus que sempre causam doença sintomática (p. ex., varíola). Atualmente, esse recurso é usado em hospitais para limitar a **disseminação nosocomial** dos vírus, especialmente para os pacientes de alto risco (p. ex., pacientes imunocomprometidos). A desinfecção adequada de itens contaminados e o tratamento das fontes de abastecimento de água e redes de esgoto são meios de limitar a disseminação de vírus entéricos. As alterações no estilo de vida fizeram a diferença na disseminação dos vírus sexualmente transmissíveis como HIV, HBV e HSV. A eliminação de um artrópode ou de seu nicho ecológico (p. ex., drenagem de pântanos nas localidades habitadas) se mostrou eficaz no controle da disseminação dos arbovírus.

A melhor maneira de limitar a disseminação viral, entretanto, é a imunização das populações. A imunização, seja aquela produzida pela infecção natural, seja por vacinação, protege os indivíduos e reduz o tamanho das populações suscetíveis e sem imunidade prévia necessárias para promover a disseminação e a manutenção dos vírus.

Referências Bibliográficas

Cann AJ. Principles of molecular virology. San Diego: Academic; 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 3 Oxford, England: Oxford University Press; 2006.

Emond RT, Welsby PD, Rowland HAK. Color atlas of infectious diseases. ed 4 St Louis: Mosby; 2003.

Evans AS, Kaslow RA. Viral infections of humans: epidemiology and control. ed 4 New York: Plenum; 1997.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL. Krugman's infectious diseases of children. ed 11 St Louis: Mosby; 2004.

Goering R, Dockrell H, Zuckerman M, et al. Mims' medical microbiology. ed 4 Edinburgh: Mosby; 2008.

Haller O, Kochs G, Weber F. The interferon response circuit: induction and suppression by pathogenic viruses. Virology. 2006;344:119–130.

Hart CA, Broadhead RL. Color atlas of pediatric infectious diseases. St Louis: Mosby; 1992.

Hart CA, Shears P. Color atlas of medical microbiology. London: Mosby; 2004.

Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Fields virology. ed 5 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. ed 6 Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005.

Mims CA, White DO. Viral pathogenesis and immunology. Oxford, England: Blackwell; 1984.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society Microbiology Press; 2009.

Rosenthal KS. Viruses: microbial spies and saboteurs. Infect Dis Clin Pract. 2006;14:97–106.

Sampayrac L. How pathogenic viruses work. Mississauga, Ontario: Jones and Bartlett; 2001.

Shulman ST, Phair JP, Peterson LR, et al. The biological and clinical basis of infectious diseases. ed 5 Philadelphia: WB Saunders; 1997.

Stark GR, Kerr IM, Williams BR, et al. How cells respond to interferons. Ann Rev Biochem. 1998;67:227-264.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

White DO, Fenner FJ. Medical virology. ed 4 San Diego: Academic; 1994.

Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR. Principles and practice of clinical virology. ed 5 Chichester, England: Wiley; 2004.

Websites

All the virology on the WWW. www.virology.net/garryfavweb.html. Acessado em 7 de agosto de 2015.

The big picture book of viruses. www.virology.net/Big_Virology/BVHomePage.html. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: CDC A-Z index. www.cdc.gov/health/diseases.htm. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Traveler's health. www.cdc.gov/travel/diseases.htm. Acessado em 7 de agosto de 2015.

National Center for Infectious Diseases: Infectious disease information A-Z index. www.cdc.gov/ncidod/diseases/index.htm. Acessado em 7 de agosto de 2015.

National Foundation for Infectious Diseases: Fact sheets on diseases. www.nfid.org/factsheets/Default.html. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Stannard L: Virus ultra structure. www.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/linda.html. Acessado em 14 de maio de 2012.

CAPÍTULO 38

O Papel dos Vírus nas Doenças

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios e necessitam de uma célula do hospedeiro apropriada para replicar-se e prolongar a sua existência. Os vírus usam o maquinário bioquímico da célula para produzir seus componentes e, então, a partir desses elementos, compor uma nova partícula viral. Em muitos casos, isso é letal para a célula. As células do sistema inato e a resposta da imunidade adaptativa tentam bloquear a replicação viral ou matar as células infectadas para prevenir a propagação do vírus para outros locais no corpo. A maioria das infecções virais causa pouco ou nenhum sintoma e não é necessário fazer tratamento extensivo. Quando a doença se desenvolve, geralmente resulta da disseminação do vírus em importantes tecidos e da morte dessas células por replicação viral, por inflamação ou por outras defesas do hospedeiro. Além disso, os vírus são excelentes indutores de produção de interferon e citocinas, o que resulta nos sintomas sistêmicos, incluindo sintomas semelhantes à gripe.

O resfriado comum, a influenza, as síndromes semelhantes à gripe e a gastroenterite são doenças virais comuns. Outras infecções virais que visam aos tecidos e aos órgãos essenciais podem causar doença grave e até mesmo morte. Em geral, os sintomas e a intensidade de uma infecção viral são determinados: (1) pela habilidade do paciente em prevenir a disseminação ou resolver rapidamente a infecção, antes que o vírus possa atingir órgãos importantes ou causar danos significativos; (2) pela importância do tecido-alvo; (3) pela virulência do vírus; (4) pela extensão da resposta imunopatológica induzida pelo vírus; e (5) pela habilidade do corpo em reparar o dano.

Imunização por infecção prévia ou vacinação são os melhores meios de proteção contra as doenças virais. Ao contrário das bactérias, existem relativamente poucos alvos para o desenvolvimento de drogas antivirais, mas existem medicamentos disponíveis para certos vírus.

Neste capítulo, as doenças virais são discutidas quanto aos seus sintomas, sistema orgânico que serve de alvo e quanto aos fatores do hospedeiro que influenciam a sua apresentação. Os capítulos subsequentes discutirão as características dos membros específicos de cada família viral e as doenças que esses vírus causam. O retorno a este capítulo propiciará boa revisão dos vírus.

Doenças Virais

Os principais locais de doença viral são o trato respiratório; o trato gastrointestinal; os revestimentos epitelial, mucoso e endotelial da pele, boca e genitália; o tecido linfoide; o fígado e outros órgãos, além do sistema nervoso central (SNC) (Fig. 38-1). Os exemplos apresentados neste capítulo representam as causas mais comuns das doenças virais.

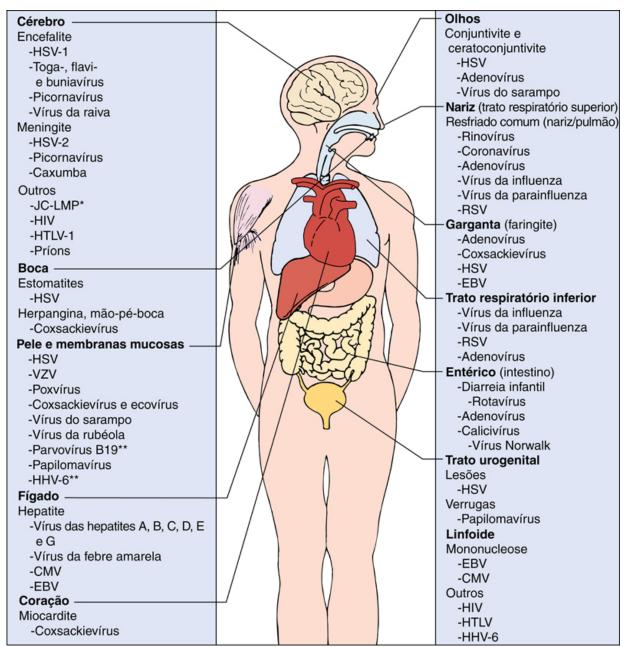


FIGURA 38-1 Principais tecidos-alvo de doença viral. O asterisco (*) indica leucoencefalopatia multifocal progressiva (*LMP*). A infecção por vírus indicada com dois asteriscos (**) resulta em exantema imunomediado. *CMV*, citomegalovírus; *EBV*, vírus Epstein-Barr; *HHV*-6, herpes-vírus humano 6; *HIV*, vírus da imunodeficiência humana; *HSV*, vírus do herpes simples; *HTLV*, vírus linfotrópico de células T humanas; *JCV*, vírus JC; *RSV*, vírus sincicial respiratório; *VZV*, vírus varicella-zoster.

Infecções Orais e do Trato Respiratório

A orofaringe e o trato respiratório são os **locais mais comuns** de infecção viral e doenças (Tabela 38-1). Os vírus são disseminados em gotículas respiratórias, aerossóis, alimentos, água e saliva, bem como pelo contato próximo e pelas mãos. Sintomas respiratórios semelhantes podem ser causados por vários vírus diferentes. Por exemplo, a bronquiolite pode ser ocasionada pelo vírus sincicial respiratório ou pelo vírus da parainfluenza. Alternativamente, um vírus pode provocar sintomas diferentes em pessoas diferentes. O vírus influenza pode causar infecção leve do trato respiratório superior em uma pessoa e pneumonia potencialmente fatal em outra. Vacinas e drogas antivirais estão disponíveis para a influenza.



Doenças Orais e Respiratórias

Doença	Agente Etiológico			
Resfriado comum	Rinovírus*			
	Coronavírus*			
	Vírus da influenza			
	Vírus da parainfluenza			
	Vírus sincicial respiratório (RSV)			
	Metapneumovírus			
	Adenovírus			
	Enterovírus			
Faringite	Vírus do herpes simples			
	Vírus Epstein-Barr			
	Adenovírus*			
	Coxsackievírus A^* (herpangina, doença da mão-pé-boca) e outros enterovírus			
Crupe, Amigdalite, Laringite e Bronquite (Crianças < 2	Vírus da parainfluenza 1*			
Anos)	Vírus da parainfluenza 2			
	Vírus da influenza			
	Adenovírus			
	Vírus Epstein-Barr			
Bronquiolite	RSV* (lactentes)			
	Metapneumovírus			
	Vírus da parainfluenza 3* (lactentes e crianças)			
	Vírus da parainfluenza 1 e 2			
Pneumonia	RSV* (lactentes)			
	Metapneumovírus			
	Vírus da parainfluenza* (lactentes)			
	Vírus da influenza*			
	Adenovírus			
	Vírus varicela-zóster (infecção primária em adultos ou hospedeiros imunocomprometidos)			
	Citomegalovírus (infecção de hospedeiro imunocomprometido)			
	Sarampo			

^{*} Agentes causais mais comuns.

Muitas infecções virais iniciam-se na orofaringe ou no trato respiratório, infectam o pulmão e se disseminam sem causar sintomas respiratórios significativos. O vírus varicela-zóster (VZV) e o vírus do sarampo iniciam infecção no pulmão e podem causar pneumonia, mas geralmente provocam infecções sistêmicas acarretando exantema (erupção cutânea). Entre os outros vírus que estabelecem infecção primária na orofaringe ou no trato respiratório, progredindo para outros locais, incluem-se o vírus da rubéola, o vírus da caxumba, o enterovírus e vários herpes-vírus humanos.

Os sintomas e a gravidade de uma doença viral respiratória dependem da natureza do vírus, do local da infecção (trato respiratório superior ou inferior) e do estado de imunidade e idade da pessoa. Quadros como fibrose cística e tabagismo, que comprometem as barreiras ciliadas e mucoepiteliais contra a infecção, aumentam o risco de doença grave.

A faringite e as doenças orais são apresentações virais comuns. A maioria dos enterovírus (picornavírus) infecta a orofaringe e a seguir progride através de uma viremia para outros tecidos-alvo. Por exemplo, sintomas como faringite de início agudo, febre e lesões orais em forma de vesículas são características das infecções por coxsackievírus A (herpangina, doença da mão-pé-boca), de algumas infecções por coxsackievírus B e por ecovírus. A doença por adenovírus e os estágios iniciais da doença por vírus Epstein-Barr (EBV) são caracterizados por garganta inflamada e amigdalite com membranas exsudativas; o EBV avança até causar mononucleose infecciosa. O vírus do herpes simples (HSV) causa infecções primárias

locais da mucosa da boca e da face (gengivoestomatite), estabelecendo infecção neuronal latente que pode recorrer na forma de herpes labial (aftas, bolhas febris). O HSV é também causa comum de faringite. O HSV e o coxsackievírus A podem também envolver as amígdalas, mas com lesões vesiculares. As lesões vesiculares na mucosa bucal (manchas de Koplik) são um aspecto precoce diagnóstico da infecção do sarampo.

As infecções virais do trato respiratório superior, incluindo o resfriado comum e a faringite, respondem por pelo menos 50% do absenteísmo nas escolas e no trabalho, apesar de serem geralmente benignas. Os rinovírus e os coronavírus são as causas predominantes das infecções do trato respiratório superior. Nariz com coriza (rinite) seguida de congestão, tosse, espirros, conjuntivite, cefaleia e garganta inflamada são sintomas típicos do resfriado comum. Outras causas do resfriado comum ou da faringite são sorotipos específicos dos ecovírus e dos coxsackievírus, adenovírus, influenza, parainfluenza, metapneumovírus e vírus sincicial respiratório (RSV).

Amigdalite, laringite e crupe (laringotraqueobronquite) podem acompanhar certas infecções virais do trato respiratório. As respostas inflamatórias à infecção viral estreitam a traqueia abaixo das cordas vocais (área subglótica), resultando em laringite (nos adultos) e crupe (nas crianças). Esse estreitamento causa a perda da voz, tosse rouca e aguda e o risco, especialmente em crianças mais novas, de bloqueio das vias aéreas e choque. As crianças infectadas com vírus da parainfluenza estão especialmente em risco para crupe.

As infecções virais do trato respiratório inferior podem resultar em doença mais grave, e os sintomas dessas infecções incluem bronquiolite (inflamação dos bronquíolos), pneumonia, pneumonite e doenças associadas. O vírus da parainfluenza, o metapneumovírus e os RSVs são problemas sérios para lactentes e crianças, mas causam somente infecções assintomáticas ou sintomas de um resfriado comum em adultos. O vírus da parainfluenza 3 e, especialmente, as infecções por RSV são as causas principais da pneumonia ou da bronquiolite potencialmente fatais em lactentes com menos de seis meses de idade. A infecção por esses vírus não fornece imunidade vitalícia.

O vírus da influenza é, provavelmente, o mais conhecido e temido dos vírus respiratórios comuns, com a introdução anual de novas cepas assegurando sua presença em vítimas imunologicamente suscetíveis. As crianças são universalmente suscetíveis às novas cepas de vírus, enquanto as pessoas mais velhas podem ter sido imunizadas durante epidemia anterior da cepa anual. Apesar dessa imunização, os idosos são especialmente suscetíveis à pneumonia provocada por novas cepas de vírus, pois podem não ter capacidade de montar resposta imune primária suficientemente efetiva a uma nova cepa do vírus da influenza ou de reparar o dano tecidual causado pela doença. A infecção por influenza também aumenta o risco de pneumonia fatal por *Staphylococcus aureus* ou por coinfecções estreptocócicas. Outros possíveis agentes virais da pneumonia são adenovírus, paramixovírus e infecções primárias por VZV em adultos.

Sintomas Sistêmicos e Semelhantes aos da Gripe

Muitas infecções virais causam os clássicos **sintomas semelhantes aos da gripe** (p. ex., febre, mal-estar, anorexia, cefaleia, dores no corpo), que são efeitos colaterais causados pelas respostas do hospedeiro à infecção. Durante a fase virêmica, muitos vírus induzem a liberação de interferon e de citocinas. Além dos vírus respiratórios, os sintomas semelhantes aos da gripe podem acompanhar infecções causadas por vírus da arboencefalite, HSV do tipo 2 (HSV-2) e por outros vírus.

Artrite e outras doenças inflamatórias podem resultar da tempestade de citocinas e das respostas de hipersensibilidade imune induzidas pela infecção ou por complexos imunes contendo um antígeno viral. Por exemplo, a infecção por parvovírus B19 (em adultos), a rubéola e a infecção por alguns togavírus provocam artrite. Doenças por imunocomplexos associadas ao vírus da hepatite B (HBV) crônico podem resultar em várias apresentações, incluindo artrite e nefrite.

Infecções do Trato Gastrointestinal

Infecções do trato gastrointestinal podem resultar em gastroenterite, vômitos, diarreia ou não causar sintoma (Quadro 38-1). Esses vírus são vírus de capsídeo nu com uma estrutura física que pode suportar as condições adversas do trato gastrointestinal. Vírus Norwalk, calicivírus, astrovírus, adenovírus, reovírus e rotavírus infectam o intestino delgado, mas não o cólon, alterando a função ou prejudicando o revestimento epitelial e as vilosidades de absorção. Isso resulta na absorção inadequada de água e ao desequilíbrio de eletrólitos. A diarreia resultante em crianças mais velhas e em adultos é, em geral, autolimitada e pode ser tratada com reidratação e restauração do equilíbrio eletrolítico. Esses vírus, especialmente o rotavírus, são problemas importantes para adultos e crianças em regiões com estiagem e fome.



Quadro 38-1 Vírus Gastrointestinais

Lactentes

Rotavírus A* Adenovírus 40, 41 Coxsackievírus A24

Lactentes, Crianças e Adultos

Vírus Norwalk* Calicivírus Astrovírus Rotavírus A e B (surtos na China) Reovírus

A gastroenterite viral tem efeito mais significativo em lactentes e pode exigir hospitalização. A extensão do dano aos tecidos e consequente perda de fluidos podem ser fatais. O rotavírus e o adenovírus de sorotipos 40 e 41 são as principais causas de gastroenterite infantil. Estão disponíveis vacinas para o rotavírus.

A disseminação fecal-oral dos vírus entéricos é promovida pela higiene precária, predominando especialmente em creches. Surtos do vírus Norwalk e do calicivírus que afetam crianças mais velhas e adultos estão geralmente associados com ingestão de alimento ou fonte de água contaminados. Em geral, a diarreia vem acompanhada de vômitos nos pacientes infectados pelo vírus Norwalk e pelo rotavírus. Embora os enterovírus (picornavírus) sejam disseminados pela via fecal-oral, esses agentes normalmente causam apenas sintomas gastrointestinais leves ou mesmo nenhum sintoma. Em vez disso, esses vírus estabelecem uma viremia, se espalham para outros órgãos-alvo e, então, causam a doença clínica.

Exantemas, Febres Hemorrágicas e Artrites

A doença de pele induzida por vírus (Tabela 38-2) pode resultar da infecção através da mucosa ou de pequenos cortes ou abrasões na pele (HSV), como infecção secundária após o estabelecimento de uma viremia (VZV e varíola) ou como resultado da resposta inflamatória montada contra os antígenos virais (parvovírus B19). As principais classificações de erupções cutâneas virais são maculopapular, vesicular, nodular e hemorrágica. As **máculas** são manchas achatadas (planas) e coloridas. **Pápulas** são áreas de pele ligeiramente elevadas que podem resultar de respostas imunes ou inflamatórias, em vez dos efeitos diretos do vírus. **Nódulos** são áreas maiores e elevadas da pele. **Lesões vesiculares** são bolhas que provavelmente contêm vírus. O papilomavírus humano (HPV) causa verrugas e o molusco contagioso causa crescimentos semelhantes a verrugas (nódulos) ao estimular o crescimento das células da pele. Existem vacinas para o HPV.



Tabela 38-2

Exantemas Virais

Condição	Agente Etiológico
Exantema	
Rubéola	Vírus do sarampo
Sarampo alemão	Vírus da rubéola
Roséola infantil	Herpes-vírus humano 6*
Eritema infeccioso	Parvovírus humano B19*
Exantema de Boston	Ecovírus 16
Mononucleose infecciosa	Vírus Epstein-Barr, citomegalovírus
Vesículas	
Herpes oral ou genital	Vírus do herpes simples*
Varicela/cobreiro	Vírus da varicela-zóster*
Doença da mão-pé-boca, herpangina	Coxsackievírus A*
Papilomas etc.	
Verrugas	Papilomavírus*
Molusco	Molusco contagioso*

^{*} Agentes causais mais comuns.

Os exantemas clássicos da infância são a *roseola infantum* (roséola infantil ou exantema súbito [HHV-6]), a quinta doença (eritema infeccioso [parvovírus B19]) e (em crianças não vacinadas) varicela, sarampo e rubéola. O exantema é secundário à viremia e acompanhado de febre. Os exantemas também são causados por infecções de enterovírus, alfavírus, vírus da dengue e outros flavivírus. Essas erupções também são vistas, ocasionalmente, em pacientes com mononucleose infecciosa. As vacinas estão disponíveis para varicela-zóster, sarampo, caxumba e rubéola.

Agentes causais mais comuns.

O vírus da febre amarela, o vírus da dengue, o vírus Ebola, o vírus da febre de Lassa, o vírus Sin Nombre e outros vírus de febre hemorrágica estabelecem a viremia e infectam o revestimento da célula endotelial dos vasos, possivelmente comprometendo a estrutura do vaso sanguíneo. A citólise viral ou imune pode então acarretar maior permeabilidade ou ruptura do vaso, produzindo erupção hemorrágica com petéquias (hemorragias salpicadas sob a pele) e equimoses (contusões maiores) e, portanto, sangramento interno, perda de eletrólitos e choque.

A artrite pode ser consequência a uma infecção direta da articulação ou uma resposta imune a vírus como togavírus (p. ex., Chikungunya, rubéola), parvovírus B19, flavivírus (p. ex., vírus da dengue e vírus da hepatite C [HCV]), HBV, vírus da imunodeficiência humana (HIV) e vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1). Os complexos imunes contêm antígenos virais que podem provocar resposta inflamatória ou as infecções virais podem desencadear respostas autoimunes, mas a maioria das atrites virais é temporária.

Infecções do Olho

Infecções do olho resultam do contato direto com um vírus ou da disseminação virêmica (Quadro 38-2). A conjuntivite (olho cor-de-rosa) é um aspecto normal de muitas infecções da infância e é característica de infecções causadas por sorotipos específicos do adenovírus (3, 4a e 7) e pelos vírus do sarampo e da rubéola. A ceratoconjuntivite causada por adenovírus (8, 19a e 37), HSV ou VZV envolve a córnea e pode ocasionar dano significativo. A doença provocada por HSV pode voltar a ocorrer, causando escarificação e cegueira. O enterovírus 70 e o coxsackievírus A24 podem causar conjuntivite hemorrágica aguda. A catarata é o aspecto clássico dos bebês nascidos com a síndrome da rubéola congênita. A coriorretinite está associada com infecção por citomegalovírus (CMV) em recém-nascidos (congênita), assim como em pessoas imunocomprometidas (p. ex., aquelas com a síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]).



Quadro 38-2 Infecções dos Órgãos e dos Tecidos

Fígado

Vírus das hepatites A*, B*, C*, G, D e E

Vírus da febre amarela

Vírus Epstein-Barr

Hepatite em neonato ou pessoa imunocomprometida:

Citomegalovírus

Vírus do herpes simples

Vírus da varicela-zóster

Vírus da rubéola (síndrome da rubéola congênita)

Coração

Coxsackievírus B

Rim

Citomegalovírus

Músculo

Coxsackievírus B (pleurodinia)

Glândulas

Citomegalovírus

Vírus da caxumba

Coxsackievírus B

Olho

Vírus do herpes simples

Adenovírus*

Vírus do sarampo

Vírus da rubéola

Enterovírus 70

Coxsackievírus A24

^{*} Agentes causais mais comuns.

As infecções dos órgãos principais podem causar doença significativa ou resultar em mais disseminação ou secreção do vírus (Quadro 38-2). Os sintomas podem surgir do dano ao tecido ou das respostas inflamatórias.

O fígado é um alvo predominante para muitos vírus que o alcançam por viremia ou pelo sistema (reticuloendotelial) de fagócitos mononucleares. O fígado atua como fonte para uma viremia secundária, mas também pode ser danificado pela infecção. Os vírus das hepatites A, B, C, G, D e E e o vírus da febre amarela causam os sintomas clássicos de hepatite e estão associados, com frequência, com mononucleose infecciosa por EBV e infecções por CMV. O fígado é também um alvo principal na infecção disseminada por HSV dos neonatos e dos lactentes. Vacinas estão disponíveis para as hepatites A e B, e drogas antivirais, para hepatites B e C.

O coração e outros músculos também são suscetíveis à infecção viral e aos danos decorrentes. O coxsackievírus pode causar miocardite ou pericardite em recém-nascidos, crianças e adultos. O coxsackievírus B pode infectar os músculos e ocasionar pleurodinia (doença de Bornholm). Outros vírus (p. ex., vírus da influenza, CMV) também podem infectar o coração.

A infecção das glândulas secretoras, dos órgãos sexuais acessórios e das glândulas mamárias resulta em disseminação contagiosa de CMV. Uma resposta inflamatória à infecção, como ocorre na **caxumba** (parotite, orquite), pode ser a causa dos sintomas. A infecção pelo vírus coxsackie B das células das ilhotas pode iniciar respostas autoimunes que provocam o diabetes tipo 1. A infecção por CMV do rim e a reativação representam problemas para pessoas imunocomprometidas e uma razão importante para falha do transplante renal.

Infecções do Sistema Nervoso Central

As infecções virais do cérebro e do SNC podem causar as doenças virais mais graves por causa da importância do SNC e de sua capacidade muito limitada de reparar danos (Quadro 38-3). O dano ao tecido é geralmente causado por uma combinação de patogênese viral e imunopatogênese. A maioria das infecções virais neurotrópicas, entretanto, são assintomáticas, já que o vírus não atinge o cérebro ou não causa dano suficiente ao tecido para produzir sintomas.



Quadro 38-3 Infecções do Sistema Nervoso Central

Meningite

Enterovírus

Ecovírus

Coxsackievírus*

Poliovírus

Vírus do herpes simples 2*

Adenovírus

Vírus da caxumba

Vírus da coriomeningite linfocítica

Vírus da arboencefalite

Paralisia

Poliovírus

Enterovírus 70 e 71

Coxsackievírus A7

Encefalite

Vírus do herpes simples 1*

Vírus da varicela-zóster

Vírus da arboencefalite*

Vírus da raiva

Coxsackievírus A e B

Poliovírus

Encefalite Pós-infecciosa (Mediada pelo Sistema Imune)

Vírus do sarampo

Vírus da caxumba

Vírus da rubéola

Vírus da varicela-zóster

Vírus da influenza

Outros

Vírus JC (leucoencefalopatia multifocal progressiva [em pessoas imunocomprometidas])

Variante do sarampo (panencefalite esclerosante subaguda)

Príons (encefalopatia)

Vírus da imunodeficiência humana (demência da AIDS)

Vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1 (paraparesia espástica tropical)

AIDS, síndrome da imunodeficiência adquirida.

O vírus pode disseminar-se para o SNC através do sangue (arbovírus) ou em macrófagos (HIV); também pode se espalhar a partir de uma infecção periférica dos neurônios (olfatória), ou infectar primeiro a pele (HSV) ou o músculo (pólio, raiva) e então progredir para os neurônios de inervação. O vírus pode ter predileção por certos pontos no cérebro (p. ex., o lobo temporal é o alvo na encefalite por HSV, o corno de Ammon [hipocampo], na raiva, e o corno anterior da medula espinal e os neurônios motores para o vírus da poliomielite).

As infecções virais do SNC são normalmente diferenciadas das infecções bacterianas pelo achado de células mononucleares, baixo número de leucócitos polimorfonucleares e níveis normais ou levemente reduzidos de glicose no líquido cefalorraquidiano. A detecção por imunoensaio de antígenos específicos, de genomas virais ou do RNA mensageiro pela técnica da reação em cadeia da polimerase ou pelo isolamento do vírus em uma amostra de líquido cefalorraquidiano ou em espécime de biópsia confirmam o diagnóstico e identificam o agente viral. A estação do ano também facilita o diagnóstico, pois as doenças por enterovírus e por arbovírus geralmente ocorrem durante o verão, enquanto a encefalite por HSV e outras síndromes virais podem ser observadas durante todo o ano.

A meningite asséptica é causada por inflamação e edema das meninges que envolvem o cérebro e a medula espinal em resposta à infecção por enterovírus (especialmente os ecovírus e os coxsackievírus), HSV-2, vírus da caxumba ou vírus da coriomeningite linfocítica. Em geral, a doença é autolimitada e, diferentemente da meningite bacteriana, cura-se sem sequelas, a menos que o vírus tenha acesso aos neurônios e ao cérebro, infectando-os (meningoencefalite). O vírus ganha acesso às meninges através da viremia.

A encefalite e a mielite resultam de uma combinação de patogênese viral e imunopatogênese em tecido cerebral e neurônios, apresentando quadros fatais ou que ocasionam dano significativo e sequelas neurológicas permanentes. As causas potenciais da encefalite são HSV, VZV, vírus da raiva, vírus da encefalite da Califórnia, vírus da encefalite do oeste do Nilo e de St. Louis, vírus da caxumba e o vírus do sarampo. O poliovírus e vários outros enterovírus causam doença paralítica (mielite).

O HSV e o VZV são vírus ubíquos e normalmente causam infecções latentes assintomáticas do SNC, mas podem também causar encefalite. A maioria das infecções provocadas por vírus da arboencefalite resulta em sintomas semelhantes aos da gripe, em vez da encefalite. A encefalite pós-sarampo e a panencefalite esclerosante subaguda eram sequelas raras do sarampo antes da introdução da vacina.

Outras síndromes neurológicas induzidas por vírus são a demência por HIV, a paraparesia espástica tropical causada pelo HTLV-1, a leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP) induzida por poliomavírus JC em indivíduos imunodeficientes e as encefalopatias espongiformes associadas a príons (*kuru*, doença de Creutzfeldt-Jakob, doença de Gerstmann-Sträussler- Scheinker). A LMP e as encefalopatias espongiformes apresentam períodos de incubação longos.

Doenças Hematológicas

Os linfócitos e os macrófagos não são muito permissíveis à replicação viral, mas são alvos para diversos vírus que estabelecem infecções persistentes. Essas células também apresentam antígenos e, durante a fase aguda da infecção, a replicação viral do EBV, do HIV ou do CMV provoca uma resposta elevada de células T, resultando em **síndromes semelhantes à mononucleose**. Além disso, as infecções das células T causadas por CMV, vírus do sarampo e HIV de células T são imunossupressoras. O HIV reduz o número de células T CD4 auxiliares, comprometendo ainda mais o sistema imune. A infecção por HTLV-1 ocasiona doença leve, mas pode acarretar, muito mais tarde, **leucemia de células T adulta** ou paraparesia espástica tropical (Quadro 38-4).



Quadro 38-4 Vírus Transmitidos pelo Sangue

Hepatites B, C, G e D

Vírus da imunodeficiência humana

Vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1

Citomegalovírus

Vírus Epstein-Barr

Vírus da encefalite do oeste do Nilo

Os macrófagos e as células da linhagem dos macrófagos podem ser infectados por muitos vírus. Os macrófagos atuam como veículos para disseminação do vírus por todo o corpo, porque a replicação dos vírus é ineficiente nesses tipos celulares e as células geralmente não são lisadas pela infecção. Esse processo promove infecções persistentes e crônicas. O

^{*} Agentes causais mais comuns.

macrófago é a célula-alvo primária para o vírus da dengue. Anticorpos não neutralizantes podem promover a captação do vírus da dengue e do HIV para o interior da célula através dos receptores Fc. Os macrófagos e as células da linhagem mieloide são as células iniciais infectadas com HIV que fornecem um reservatório para o vírus além do acesso ao cérebro. Acredita-se que a demência por AIDS resulte das ações desses macrófagos infectados e das células microgliais no cérebro. Medicamentos antivirais estão disponíveis para o HIV.

Doenças Virais Sexualmente Transmissíveis

A transmissão sexual é a principal via para a disseminação de papilomavírus, HSV, CMV, HIV, HTLV-1, HBV, HCV e vírus da hepatite D (HDV) (Quadro 38-5). Esses vírus estabelecem infecções crônicas e latentes recorrentes, com liberação viral assintomática no sêmen e nas secreções vaginais. Essas propriedades virais estimulam a disseminação por uma via de transmissão menos usual para os vírus e que deveria ser evitada durante a doença sintomática. Os vírus também podem ser transmitidos pela via neonatal ou perinatal a crianças. O papilomavírus e o HSV estabelecem infecções primárias locais com doença recorrente no ponto inicial. As lesões e a propagação assintomática são fontes de transmissão sexual ou perinatal para o recém-nascido. O CMV e o HIV infectam as células mieloides e linfoides sob o revestimento mucoso, enquanto os vírus da hepatite se dirigem ao fígado. O CMV, o HIV e os vírus da hepatite estão presentes no sangue, no sêmen e nas secreções vaginais, podendo ser transmitidos aos parceiros sexuais e aos recém-nascidos.



Quadro 38-5 Vírus Sexualmente Transmissíveis

Papilomavírus humanos 6, 11 e 42

Papilomavírus humanos 16, 18, 31, 45 e outros (alto risco para o carcinoma cervical humano)

Vírus do herpes simples (HSV-1 e HSV-2)

Citomegalovírus

Vírus das hepatites B, C e D

Vírus da imunodeficiência humana

Vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1

Disseminação dos Vírus por Transfusão e Transplante

HBV, HCV, HDV, HIV, HTLV-1 e CMV são transmitidos pelo sangue e por transplante de órgãos. Esses vírus também estão no sêmen e são sexualmente transmitidos. A natureza crônica da infecção, a liberação viral assintomática persistente ou a infecção dos macrófagos e dos linfócitos promovem a transmissão por essas vias. O vírus da encefalite do oeste do Nilo estabelece viremia suficiente por um período suficientemente longo, possibilitando a ocorrência de transmissão via transfusão sanguínea. A triagem do suprimento de sangue em busca da presença de HBV, HCV, HIV e HTLV tem controlado a transmissão desses vírus nas transfusões de sangue (Quadro 38-6). A triagem de CMV é feita no sangue e nos órgãos destinados a bebês, mas para o fornecimento geral de sangue a pesquisa de CMV e de outros vírus ainda não foi implementada, permanecendo o risco de infecção.



Quadro 38-6 Triagem do Suprimento de Sangue

Síndrome da imunodeficiência humana

Hepatite B

Hepatite C

Vírus linfotrópico de células T humanas dos tipos 1 e 2

Vírus da encefalite do oeste do Nilo'

Sífilis

Disseminação dos Vírus por Artrópodes e Animais

Os vírus dos artrópodes (**arbovírus**) incluem muitos dos togavírus, flavivírus, buniavírus e o reovírus da febre do carrapato do Colorado. Esses vírus estabelecem viremia em pássaros ou animais (hospedeiros) suficiente para permitir a contaminação de mosquitos ou carrapatos (vetores) e, subsequentemente, a transmissão para o homem, quando esse entra no *habitat* do vetor e do hospedeiro. Se um vírus consegue estabelecer uma viremia suficiente nos humanos, então o vírus — como o vírus da febre amarela, o vírus do oeste do Nilo ou o vírus da encefalite de St. Louis — vai ser transmitido pessoa a pessoa, nos centros urbanos. Arenavírus, hantavírus e rabdovírus são transmitidos ao homem por saliva, urina, fezes ou picada de um animal infectado (Tabela 38-3). As vacinas antirrábicas estão disponíveis para trabalhadores cuja ocupação os expõe a risco, ou para quem é suspeito de ter sido infectado pelo vírus da raiva.

^{*} Triagem iniciada em 2003 em seis milhões de unidades, com 818 unidades positivas excluídas do uso.



Arbovírus e Zoonoses

Vírus	Família	Reservatório/Vetor
Encefalite equina oriental	Togaviridae	Pássaros/mosquito Aedes
Encefalite equina ocidental	Togaviridae	Pássaros/mosquito Culex
Encefalite do oeste do Nilo	Flaviviridae	Pássaros/mosquito Culex
Encefalite de St. Louis	Flaviviridae	Pássaros/mosquito Culex
Chikungunya	Togaviridae	Aves, mamíferos/mosquito Aedes
Encefalite da Califórnia	Bunyaviridae	Mamíferos pequenos/mosquito Aedes
Encefalite de La Crosse	Bunyaviridae	Mamíferos pequenos/mosquito Aedes
Febre amarela	Flaviviridae	Pássaros/mosquito Aedes
Dengue	Flaviviridae	Macacos/mosquito Aedes
Febre do carrapato do Colorado	Reoviridae	Carrapato
Coriomeningite linfocítica	Arenaviridae	Roedores
Febre de Lassa	Arenaviridae	Roedores
Hantavírus Sin Nombre	Bunyaviridae	Rato-veadeiro
Vírus Ebola	Filoviridae	Desconhecido
Raiva	Rabdoviridae	Morcegos, raposas, guaxinins etc.
Vírus da influenza A	Orthomyxoviridae	Pássaros, suínos etc.

Síndromes de Possível Etiologia Viral

Várias doenças produzem sintomas ou apresentam características epidemiológicas ou de outra natureza que lembram aquelas das infecções virais ou ainda podem representar sequelas de infecções virais (p. ex., respostas inflamatórias a uma infecção viral persistente). Entre essas doenças, estão a esclerose múltipla, a doença de Kawasaki, a artrite, o diabetes e a síndrome da fadiga crônica. Da mesma forma, forte resposta de citocinas a muitas infecções virais pode acionar perda de tolerância a autoantígenos, iniciando doença autoimune.

Infecções Crônicas e Potencialmente Oncogênicas

As infecções crônicas ocorrem quando o sistema imune tem dificuldade em resolver a infecção. Os vírus de DNA (exceto parvovírus e poxvírus) e os retrovírus causam infecções latentes com potencial para recorrência. O CMV e outros herpesvírus, os vírus das hepatites B, C, G e D e os retrovírus ocasionam infecções crônicas produtivas. Esses "passageiros" podem influenciar a saúde do indivíduo de maneiras sutis.

HBV, HCV, EBV, HHV-8, HPV e HTLV-1 estão associados a cânceres humanos. EBV, HPV e HTLV-1 podem imortalizar as células; após a imortalização, cofatores, aberrações cromossômicas ou ambos permitem que um clone de células contendo o vírus se transforme em câncer. Normalmente, o EBV causa mononucleose infecciosa, mas também está associado ao linfoma de Burkitt africano, ao linfoma de Hodgkin, aos linfomas em indivíduos imunocomprometidos e ao carcinoma nasofaríngeo; o HTLV-1 está associado a leucemia de células T de adultos. Muitos papilomavírus induzem um quadro de hiperplasia simples, caracterizado pelo desenvolvimento de uma verruga; entretanto, várias outras cepas de HPV já foram associadas a cânceres humanos (p. ex., tipos 16, 18, 33, 35, 58 e 68 estão associados a carcinoma cervical). A ação viral direta ou a inflamação e o dano celular crônico, além do reparo em fígados infectados por HBV ou HCV, podem resultar em episódio tumorigênico acarretando carcinoma hepatocelular. O HSV-2 tem sido associado a carcinoma cervical humano, mais provavelmente como um cofator. A imunossupressão em pacientes com AIDS, naqueles submetidos à quimioterapia por causa do câncer ou nos receptores de transplantes também permite a produção de linfoma por EBV. A infecção por HHV-8 produz muitas citocinas que estimulam o crescimento (multiplicação) das células, e esse crescimento pode progredir para o sarcoma de Kaposi, especialmente em pacientes com AIDS.

Atualmente estão disponíveis vacinas para o HBV e para cepas de alto risco do HPV. O desenvolvimento de um programa mundial de vacinação contra o HBV não só reduzirá a disseminação da hepatite viral, mas também poderá prevenir a ocorrência de carcinoma hepatocelular primário. Similarmente, a vacina para o HPV também deverá reduzir a incidência de carcinoma cervical.

Infecções em Pacientes Imunocomprometidos

Pacientes com **imunidade mediada por células deficientes** são, geralmente, mais suscetíveis a doença grave por vírus envelopados (especialmente herpes-vírus, vírus do sarampo e até pelo vírus da vacínia usado nas vacinações contra varíola) e à recorrência de infecções com vírus latentes (herpes-vírus e papovavírus). As deficiências graves de células T também afetam a resposta do anticorpo antiviral. As imunodeficiências mediadas por células podem ser congênitas ou adquiridas, resultando de defeitos genéticos (p. ex., doença de Duncan, síndrome de DiGeorge, síndrome de Wiskott-Aldrich), leucemia ou linfoma, infecções (p. ex., AIDS) ou terapia imunossupressora.

Os vírus causam apresentações atípicas e mais graves em pessoas com imunidade comprometida. Por exemplo, as infecções causadas pelos vírus da família herpes (p. ex., HSV, CMV, VZV) ou em razão do uso de vacina com vírus da vacínia para combater a varíola, que são normalmente benignas e localizadas, podem progredir no local ou se disseminar e provocar infecções viscerais e neurológicas potencialmente fatais. Uma infecção por sarampo pode causar pneumonia de células gigantes (sincicial), em vez do exantema característico.

Indivíduos com deficiência da imunoglobulina A ou hipogamaglobulinemia (deficiência de anticorpos) apresentam mais problemas com vírus respiratórios e gastrointestinais. Pacientes portadores de hipogamaglobulinemia têm mais probabilidade de apresentar doenças graves após a infecção por vírus que progridem por viremia, incluindo a vacina de vírus vivo contra pólio, o ecovírus e o VZV.

Infecções Congênitas, Neonatais e Perinatais

Os neonatos dependem da imunidade da mãe para protegê-los das infecções virais. Eles recebem anticorpos maternos através da placenta e, posteriormente, no leite materno. Esse tipo de imunidade passiva pode permanecer efetiva durante seis meses a um ano após o nascimento. Esses anticorpos maternos podem (1) proteger contra a disseminação do vírus para o feto durante uma viremia (p. ex., rubéola, B19), (2) proteger contra muitas infecções virais entéricas e do trato respiratório e (3) reduzir a gravidade de outras doenças virais após o nascimento. Entretanto, como o sistema imune mediado por células não está maduro no nascimento, os recém-nascidos são suscetíveis aos vírus que se disseminam por contato entre células (p. ex., RSV, HSV, VZV, CMV e HIV).

O vírus da rubéola e o CMV são exemplos de **vírus teratogênicos** que podem causar infecção congênita e anormalidades congênitas graves. A infecção por HIV adquirida no útero ou pelo leite materno inicia infecção crônica que provoca linfadenopatia, falhas no desenvolvimento ou encefalopatia dentro de dois anos após o nascimento. O HSV pode ser adquirido durante a passagem por um canal de parto infectado e resultar em doença disseminada potencialmente fatal. A infecção nosocomial em recém-nascidos pode ter consequências semelhantes. Se o parvovírus B19 for adquirido no útero, poderá ocasionar aborto espontâneo.

Referências Bibliográficas

Atkinson W, Wolfe S, Hamborsky J, eds. *Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases*. ed 12 Washington, DC: Public Health Foundation; 2011.

Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for prevention of transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus to health-care and public-safety workers. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1989;38(Suppl 6):1–37.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Ellner Emond RTD, Rowland HAK, Welsby P. Colour atlas of infectious diseases. ed 4 London: Mosby; 2003.

Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL. Krugman's infectious diseases of children. ed 11 St Louis: Mosby; 2004.

Goering R, Dockrell H, Zuckerman M, et al. Mim's medical microbiology. ed 4 Edinburgh: Mosby; 2008.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious diseases. ed 3 Philadelphia: WB Saunders; 2004.

Hart CA, Broadhead RL. Color atlas of pediatric infectious diseases. St Louis: Mosby; 1992.

Haukenes G, Haaheim LR, Pattison JR. A practical guide to clinical virology. New York: Wiley; 1989.

Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Fields virology. ed 5 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Logan SAE, MacMahon E. Viral meningitis. BMJ. 2008;336:36-40.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. ed 6 Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005.

Outhred AC, Kok J, Dwyer DE. Viral arthritides. Expert Rev Antiinfect Ther. 2011;9:545–554.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

White DO, Fenner FJ. Medical virology. ed 4 Orlando, Fla: Academic; 1994.

Websites

All the virology on the WWW. www.virology.net/garryfavweb.html. Acessado em 7 de agosto de 2015.

The big picture book of viruses. www.virology.net/Big_Virology/BVHomePage.html. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: CDC A-Z index. www.cdc.gov/health/diseases.htm. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Traveler's health. www.cdc.gov/travel/diseases.htm. Acessado em 7 de agosto de 2015.

National Center for Infectious Diseases: Infectious disease information A-Z index. www.cdc.gov/ncidod/diseases/index.htm. Acessado em 7 de agosto de 2015.

National Foundation for Infectious Diseases: Fact sheets on diseases. www.nfid.org/factsheets/Default.html. Acessado em 7 de agosto de 2015

Stannard L: Virus ultra structure. www.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/linda.html. Acessado em 14 de maio de 2012.

World Health Organization: Immunization service delivery. www.who.int/immunization_delivery/en/. Acessado em 7 de agosto de 2015. World Health Organization: Infectious diseases. www.who.int/topics/infectious_diseases/en/. Acessado em 7 de agosto de 2015.

CAPÍTULO 39

Diagnóstico Laboratorial de Doenças Virais

Avanços no diagnóstico laboratorial de doenças virais tornaram a identificação de vírus em amostras clínicas mais rápida e sensível. Esses avanços incluem anticorpos (utilizados como reagentes) melhores, ensaios mais sensíveis para análise direta de amostras, técnicas de genética molecular e sequenciamento genômico para a identificação direta de vírus, testes que podem identificar múltiplos vírus (multiplex) e testes automatizados. Com frequência, o isolamento do organismo é desnecessário e evitado, para minimizar o risco de contaminação no laboratório e para o pessoal técnico envolvido. Quanto mais rápido for o processo laboratorial, mais rápida será a escolha da terapia antiviral apropriada.

Os exames laboratoriais de doenças virais são realizados para: (1) confirmar o diagnóstico, identificando o agente viral da infecção; (2) determinar a terapia antimicrobiana apropriada; (3) verificar a adesão do paciente sob tratamento antiviral; (4) definir o curso da doença; (5) monitorar a doença em termos epidemiológicos; e (6) educar os médicos e os pacientes.

Os métodos laboratoriais são capazes de obter os seguintes resultados:

- 1. Descrição dos efeitos citopatológicos (ECPs) induzidos pelo vírus nas células
- 2. Detecção de partículas virais
- 3. Isolamento e crescimento do vírus
- 4. Detecção e análise de componentes virais (p. ex., proteínas [antígenos], enzimas, genomas)
- 5. Avaliação da resposta imune do paciente ao vírus (sorologia)

As técnicas moleculares e imunológicas usadas em muitos desses procedimentos estão descritas nos Capítulos 5 e 6. Vírus, antígenos virais, genomas virais e ECPs podem ser detectados por meio da análise direta de amostras clínicas e, em alguns casos, após o crescimento do vírus em cultura de células de tecidos no laboratório (Quadro 39-1).



Quadro 39-1 Procedimentos Laboratoriais para Diagnóstico de Infecções

Virais

Exame citológico Microscopia eletrônica Isolamento e cultura do vírus Detecção de proteínas virais (antígenos e enzimas) Detecção de genomas virais Sorologia

Coleta de Amostras

Os sintomas e a história do paciente, incluindo viagens recentes, a estação do ano e um diagnóstico presuntivo, ajudam a determinar os procedimentos apropriados a serem usados para identificar um agente viral (Tabela 39-1). A escolha do espécime apropriado para análise é muitas vezes complicada, uma vez que diversos vírus podem causar os mesmos sinais clínicos. Por exemplo, o desenvolvimento de sintomas de meningite durante o verão sugere uma arbovirose, caso em que a coleta do líquido cefalorraquidiano (LCR) e do sangue deveria ser realizada, ou uma enterovirose, o que necessitaria da coleta de material proveniente de *swab* de garganta, fezes e LCR para análise genômica e possível isolamento viral. Um quadro de encefalite focal com localização do lobo temporal, precedida por cefaleias e desorientação, sugere infecção pelo vírus do herpes simples (HSV), para o qual o LCR pode ser analisado relativamente rápido pela pesquisa de sequências do ácido desoxirribonucleico (DNA) viral. Essa pesquisa é realizada por amplificação do genoma viral por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR).



Amostras para Diagnóstico Viral

Vírus Patogênicos Comuns	Amostras para Cultura	Procedimentos e Comentários
Trato Respiratório		
Vírus da influenza, paramixovírus, coronavírus, rinovírus, enterovírus (picornavírus)	Lavado nasal, swab da garganta, swab nasal, escarro	RT-PCR, ELISA, ensaios multiplex detectam diversos agentes; cultura celular
Trato Gastrointestinal		
Reovírus, rotavírus, adenovírus, vírus Norwalk, outros calicivírus	Fezes, swab retal	RT-PCR, ELISA; os vírus não são cultiváveis
Exantema Maculopapular		
Adenovírus, enterovírus (picornavírus)	Swab da garganta, swab retal	PCR, RT-PCR
Vírus da rubéola; vírus do sarampo	Urina	RT-PCR, ELISA
Exantema Vesicular	•	
Coxsackievírus, ecovírus, HSV, VZV	Líquido de vesículas, raspagem ou <i>swab</i> , enterovírus nas fezes	HSV e VZV: raspagem da vesícula (esfregaço de Tzanck), cultura de células; PCR, IF
Sistema Nervoso Central (Meningite As	sséptica, Encefalite)	
Enterovírus (picornavírus)	Fezes, LCR	RT-PCR
Arbovírus (p. ex., togavírus, buniavírus)	Sangue, LCR; raramente cultivados	RT-PCR, sorologia; ensaios multiplex detectam diversos agentes
Vírus da raiva	Tecido, saliva, biópsia cerebral, LCR	IF de biópsia, RT-PCR
HSV, CMV, vírus da caxumba, vírus do sarampo	LCR	PCR ou RT-PCR, isolamento viral e pesquisa de antígenos
Trato Urinário		
Adenovírus, CMV	Urina	PCR; CMV pode ser excretado sem doença

Adenovírus, CMV	Urina	PCR; CMV pode ser excretado sem doença aparente
Sangue		
HIV, vírus da leucemia de células T humana, vírus das hepatites B, C e D, EBV, CMV, HHV-6	Sangue	ELISA para antígeno ou anticorpo, PCR, RT-PCR; ensaios multiplex

CMV, citomegalovírus; LCR, líquido cefalorraquidiano; EBV, vírus Epstein-Barr; ELISA, ensaio imunoabsorvente ligado a enzima; HHV-6, herpes-vírus humano tipo 6; HIV, vírus da imunodeficiência humana; HSV, vírus do herpes simples; IF, imunoflourescência; PCR, reação em cadeia da polimerase; RT-PCR, PCR após transcrição reversa; VZV, vírus varicela-zóster.

As amostras deverão ser coletadas logo no início da fase aguda da infecção, antes que o vírus deixe de ser excretado nas secreções do indivíduo infectado. Os vírus respiratórios, por exemplo, podem ser liberados apenas entre 3 e 7 dias e essa excreção pode cessar antes que os sintomas desapareçam. O HSV e o vírus varicela-zóster (VZV) podem não ser recuperáveis de lesões após cinco dias do início dos sintomas. Pode ser possível isolar um enterovírus do LCR durante apenas 2-3 dias do início das manifestações do sistema nervoso central. Além disso, os anticorpos produzidos em resposta à infecção podem bloquear a detecção do vírus.

Quanto mais curto o intervalo entre a coleta de uma amostra e sua entrega ao laboratório, maior o potencial para isolamento de um vírus. Isso porque muitos vírus são lábeis e as amostras são suscetíveis ao crescimento bacteriano e/ou fúngico. Os vírus são mais bem transportados e armazenados em gelo e em meio especial contendo antibióticos e proteínas, como albumina sérica ou gelatina. Perdas significativas em títulos infecciosos ocorrem quando vírus envelopados (p. ex., HSV, VZV, vírus da influenza) são mantidos à temperatura ambiente ou congelados a –20° C. Isso não é um risco para os vírus não envelopados (p. ex., adenovírus e enterovírus).

Citologia

Muitos vírus produzem um ECP característico. Na amostra de tecido ou na cultura celular, os ECPs característicos incluem alterações na morfologia da célula, lise celular, vacuolização, formação de sincícios (Fig. 39-1) e corpos de inclusão.

Os **sincícios** são células gigantes multinucleadas formadas por fusão viral de células individuais. *Os paramixovírus, o HSV, o VZV e o vírus da imunodeficiência humana (HIV) promovem a formação de sincícios.* **Corpos de inclusão** constituem alterações histológicas nas células causadas por componentes virais ou alterações nas estruturas celulares induzidas pelo vírus. Por exemplo, os corpúsculos de inclusão basofílicos intranucleares ("olhos de coruja"), encontrados em células aumentadas de tecidos infectados por citomegalovírus (CMV) (Cap. 43, Fig. 43-17) ou no sedimento urinário de pacientes infectados, são prontamente identificáveis. As inclusões nucleares de Cowdry tipo A em células individuais ou em grandes sincícios (múltiplas células fundidas) são um achado característico em células infectadas por HSV ou VZV (Fig. 39-2). A raiva pode ser detectada pela presença de corpúsculos de Negri citoplasmáticos (inclusões do vírus da raiva) em tecido cerebral (Fig. 39-3).



FIGURA 39-1 Formação de sincícios pelo vírus do sarampo. Célula gigante multinucleada (seta) visível em corte histológico de tecido de biópsia do pulmão, de um quadro de pneumonia com células gigantes induzida pelo vírus do sarampo em criança imunocomprometida. (De Hart C, Broadhead RL: A color atlas of pediatric infectious diseases, London, 1992, Wolfe.)

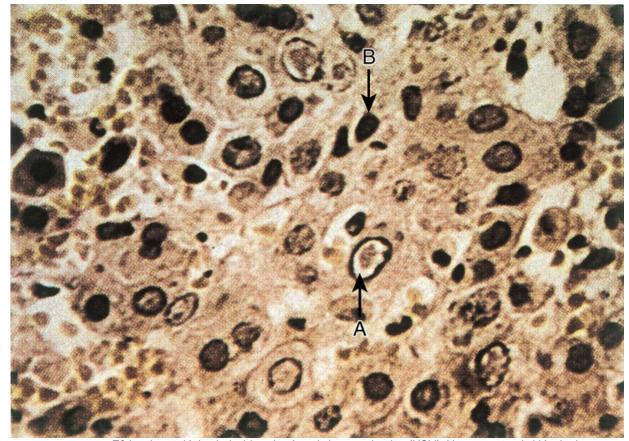


FIGURA 39-2 Efeito citopatológico induzido pelo vírus do herpes simples (HSV). Uma amostra de biópsia de um fígado infectado por HSV evidencia um corpúsculo de inclusão eosinofílico intranuclear do tipo Cowdry A (A) cercado por um halo e um anel de cromatina deslocada para perto da membrana nuclear. Uma célula infectada (B) mostra um núcleo condensado menor (picnótico). (Cortesia de Dr. JI Pugh, St Albans City Hospital, Hertfordshire, England; from Emond RT, Rowland HAK: A color atlas of infectious diseases, ed 3, London, 1995, Mosby.)

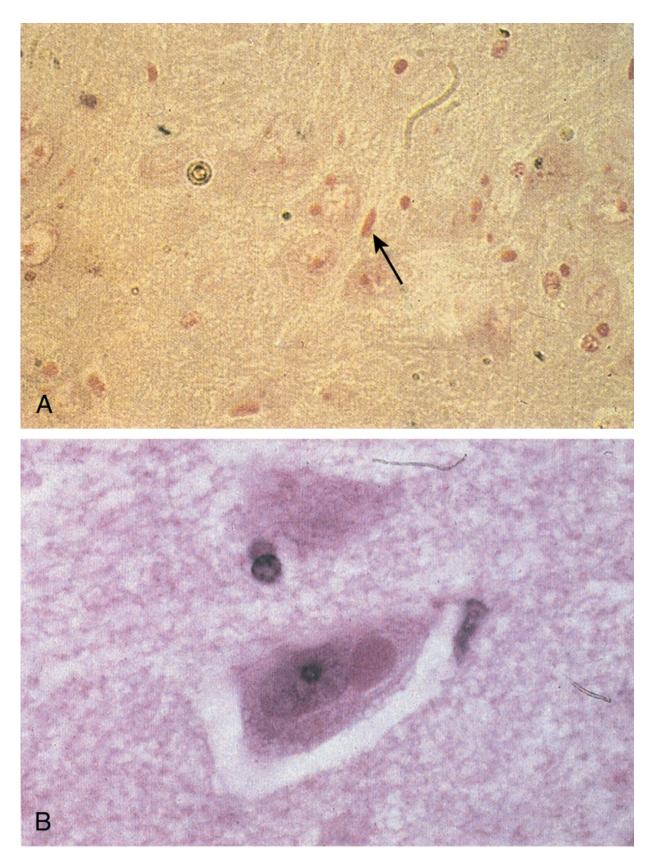


FIGURA 39-3 Corpúsculos de Negri causados por raiva. **A**, Corte do cérebro de um paciente com raiva mostrando corpúsculos de Negri (*seta*). **B**, Ampliação de outra amostra de biópsia. (**A**, De Hart C, Broadhead RL: *A color atlas of pediatric infectious diseases*, London, 1992, Wolfe.)

Frequentemente, as amostras citológicas são examinadas quanto à presença de antígenos virais específicos por imunofluorescência, ou genomas virais através da hibridização *in situ* ou PCR, permitindo identificação rápida e definitiva. Esses testes são específicos para cada vírus e devem ser escolhidos com base no diagnóstico diferencial. Esses métodos serão discutidos mais adiante.

Microscopia Eletrônica

A microscopia eletrônica não é uma técnica padrão em laboratórios clínicos, mas pode ser usada para detectar e identificar alguns vírus, se houver partículas virais suficientes. A adição de anticorpos específicos contra um vírus em uma amostra

pode provocar a aglutinação das partículas virais, facilitando a detecção e a identificação simultâneas do vírus (microscopia imunoeletrônica). Vírus entéricos (p. ex., rotavírus) que são produzidos em abundância e têm morfologia característica, podem ser detectados em amostra de fezes por esses métodos. O tecido de biópsia ou de amostra clínica processado de maneira apropriada também pode ser examinado quanto à presença de estruturas virais.

Isolamento e Cultivo Virais

O isolamento do vírus permite a análise e arquivamento de amostras, mas pode colocar indivíduos em risco de infecção. Um vírus pode ser cultivado em cultura de tecidos, ovos embrionados e animais de experimentação (Quadro 39-2). Embora ovos embrionados ainda sejam usados para o cultivo de vírus para algumas vacinas (p. ex., influenza), em laboratórios clínicos foram substituídos por culturas de células para o isolamento rotineiro de vírus. Animais experimentais são raramente usados em laboratórios clínicos para fins de isolamento viral.



Quadro 39-2 Sistemas para Propagação de Vírus

Pessoas

Animais: vacas (p. ex., vacina de Jenner contra a varíola), galinhas, camundongos, ratos e camundongos lactentes

Ovos embrionados

Cultura de órgãos

Cultura de tecidos

Primária

Linhagens de células diploides

Linhagens de células tumorais ou imortalizadas

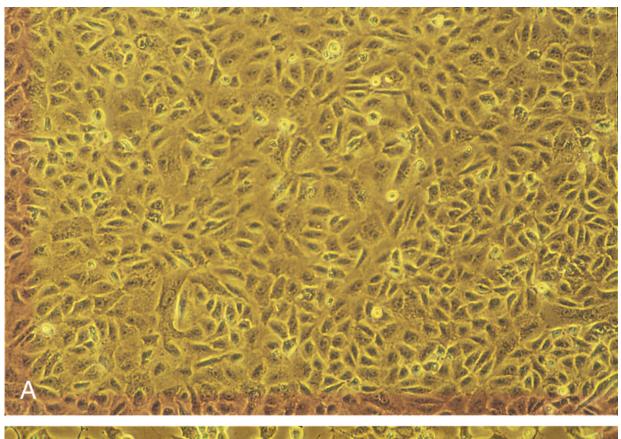
Cultura de Células

Tipos específicos de células de cultura tecidual são usados para o cultivo de vírus. As culturas de células primárias são obtidas pela dissociação de órgãos específicos dos animais com tripsina ou colagenase. As células obtidas por meio desse método são então cultivadas como monocamadas (de fibroblastos ou células epiteliais), ou em suspensão (linfócitos) em meios artificiais suplementados com soro bovino ou outra fonte de fatores de crescimento. As células primárias podem ser dissociadas com tripsina, diluídas e mantidas para o crescimento em novas monocamadas (passadas) para se tornarem culturas de células secundárias. Linhagens de células diploides são culturas de um único tipo celular que podem ser passadas muitas vezes, mas não infinitamente, antes de envelhecer ou sofrer alterações significativas em suas características. Linhagens de células tumorais e linhagens de células imortalizadas, geralmente obtidas a partir de tumores de humanos ou animais ou por exposição de células primárias a vírus oncogênicos ou reagentes químicos, consistem em tipos celulares únicos que podem ser submetidos às passagens contínuas sem envelhecer.

Células primárias de rim de macaco são excelentes para o isolamento de vírus da influenza, paramixovírus, muitos enterovírus e alguns adenovírus. Células diploides fetais humanas, geralmente fibroblásticas, suportam o crescimento de um amplo espectro de vírus (p. ex., HSV, VZV, CMV, adenovírus, picornavírus). Células HeLa, uma linhagem contínua de células epiteliais derivadas de um câncer humano, são excelentes para o isolamento do vírus sincicial respiratório, de adenovírus e do HSV. Muitos vírus clinicamente significativos podem ser isolados em pelo menos uma dessas culturas celulares.

Detecção Viral

Um vírus pode ser detectado e inicialmente identificado por meio da observação de ECP induzidos pelo vírus na monocamada de células (Fig. 39-4; Quadro 39-3), por imunofluorescência ou análise do genoma da cultura das células infectadas. Por exemplo, um único vírus infecta, dissemina-se e destrói as células adjacentes (placa viral). O tipo de cultura de células, as características dos ECPs e a rapidez do crescimento viral podem ser usados para identificar inicialmente muitos vírus clinicamente importantes. Essa abordagem para identificação de vírus é semelhante àquela usada para identificar bactérias, a qual se baseia no crescimento e na morfologia das colônias em meios diferenciais seletivos.



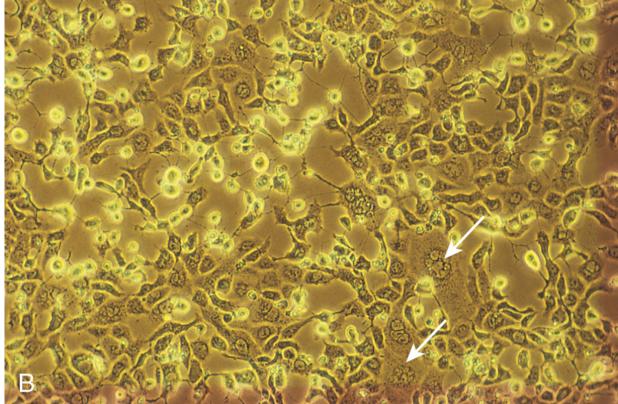


FIGURA 39-4 Efeito citopatológico da infecção pelo vírus do herpes simples (HSV). **A,** Células vero, uma linhagem celular de rim de macaco verde africano, não infectadas; **B,** Células vero infectadas com HSV-1, apresentando células arredondadas e multinucleadas, além da perda da monocamada. As *setas* indicam os sincícios.



Quadro 39-3 Efeitos Citopatológicos Virais*

Morte da célula Arredondamento da célula Degeneração Agregação Perda de adesão à placa de cultura Alterações histológicas características: corpos de inclusão no núcleo ou no citoplasma, deslocamento da cromatina para as margens

Sincícios: células gigantes multinucleadas geradas pela fusão entre células induzida pelo vírus

Alterações na superfície da célula

Expressão de antígenos virais

Hemadsorção (expressão de hemaglutinina)

Alguns vírus crescem lentamente ou simplesmente não crescem, ou ainda não causam ECP rapidamente em linhagens celulares tipicamente usadas em laboratórios de virologia clínica. Alguns causam doenças que são perigosas para os profissionais de laboratório. Esses vírus são diagnosticados, com mais frequência, com base em achados sorológicos ou pela detecção de genomas ou proteínas/antígenos virais.

Propriedades virais características também podem ser usadas para identificar vírus que não apresentam ECPs clássicos. O vírus da rubéola, por exemplo, pode não causar ECP, mas impede a (interfere na) replicação dos picornavírus por meio de um processo conhecido como **interferência heteróloga**, que pode ser usado para detectar o vírus da rubéola. As células infectadas com vírus da influenza, vírus da parainfluenza, vírus da caxumba e togavírus expressam uma glicoproteína viral (hemaglutinina) que se liga aos eritrócitos de certas espécies animais à superfície da célula infectada (**hemadsorção**) (Fig. 39-5). Quando liberados no meio de cultura celular, esses vírus podem ser detectados a partir da aglutinação de eritrócitos, um processo denominado de **hemaglutinação**. O vírus poderá, então, ser identificado a partir do anticorpo específico que bloqueia a hemaglutinação, em processo chamado de **inibição de hemaglutinação** (**HI, do inglês**, *hemagglutination inhibition*). Uma abordagem inovadora para detecção de infecção por HSV utiliza células de cultura de tecido geneticamente modificadas que expressam o gene da β-galactosidase e podem ser coradas de azul, quando infectadas com HSV (sistema enzimático induzível por vírus [ELVIS, do inglês, *enzyme-linked virus inducible system*]).

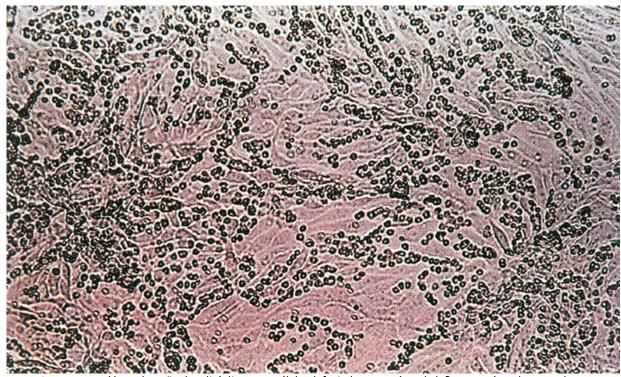


FIGURA 39-5 Hemadsorção de eritrócitos para células infectadas com vírus da influenza, vírus da caxumba, vírus da parainfluenza ou togavírus. Esses vírus expressam uma hemaglutinina em suas superfícies, que liga eritrócitos de espécies animais selecionadas.

Um vírus pode ser quantificado determinando-se a maior diluição que mantém as seguintes propriedades (titulação):

- Dose em cultura de tecido (TCD₅₀): titulação do vírus que provoca os efeitos citopatológicos em metade das células da cultura tecidual
- 2. **Dose letal (LD**₅₀): titulação do vírus que mata 50% de uma série de animais experimentais
- 3. **Dose infecciosa (ID**₅₀): titulação do vírus que inicia um sintoma detectável, anticorpo ou outra resposta em 50% de uma série de animais experimentais

O número de vírus infecciosos também pode ser avaliado por uma contagem das placas produzidas por diluições de 10 vezes da amostra (unidades formadoras de placas). A proporção de partículas virais (detectadas por microscopia

^{*} Os efeitos podem ser característicos de vírus específicos.

eletrônica) em relação às unidades formadoras de placas é sempre muito maior que 1, pois numerosas partículas virais defeituosas são produzidas durante a replicação viral.

Interpretação dos Resultados da Cultura

Em geral, a detecção de qualquer vírus em tecidos do hospedeiro, LCR, sangue ou líquido de vesículas pode ser considerada um achado altamente significativo. Entretanto, a propagação viral pode ocorrer e não estar relacionada com sintomas da doença. Certos vírus podem ser excretados intermitentemente sem causar sintomas na pessoa afetada, por períodos que variam de semanas (enterovírus nas fezes) a muitos meses ou anos (HSV ou CMV na orofaringe e na vagina; adenovírus na orofaringe e no trato intestinal). Da mesma maneira, um resultado negativo pode não ser conclusivo, pois a amostra pode ter sido manuseada inadequadamente, conter anticorpos neutralizantes ou ser obtida antes ou depois da excreção viral.

Detecção de Proteínas Virais

Enzimas e outras proteínas são produzidas durante a replicação viral e podem ser detectadas por meios bioquímicos, imunológicos e por biologia molecular (Quadro 39-4). As proteínas virais podem ser separadas por eletroforese e seus padrões usados para identificar e distinguir vírus diferentes. Por exemplo, as proteínas das células infectadas por HSV e as dos vírions, quando separadas por eletroforese, exibem padrões diferentes conforme diferentes tipos e cepas de HSV-1 e HSV-2.



Quadro 39-4 Ensaios para Proteínas Virais e Ácidos Nucleicos

Proteínas

Padrões de proteínas (eletroforese)

Atividades enzimáticas (p. ex., transcriptase reversa)

Hemaglutinação e hemadsorção

Detecção de antígenos (p. ex., imunofluorescência direta e indireta, ensaio imunoabsorvente ligado a enzima, *Western blot*)

Acidos Nucleicos

Padrões de clivagem com endonucleases de restrição

Tamanho do RNA em vírus de RNA segmentados (eletroforese)

Hibridização in situ do genoma do DNA (citoquímica)

Southern blot, Northern blot e dot blot

PCR (DNA)

PCR após transcrição reversa (RNA)

PCR quantitativa em tempo real

DNA de cadeia ramificada e testes relacionados (DNA, RNA)

Sequenciamento genômico

DNA, Ácido desoxirribonucleico; PCR, reação em cadeia da polimerase; RNA, ácido ribonucleico

A detecção e o ensaio de enzimas ou atividades características podem identificar e quantificar vírus específicos. Por exemplo, a presença da transcriptase reversa no soro ou em culturas celulares indica a existência de um retrovírus ou hepadnavírus.

Os anticorpos podem ser usados como ferramentas sensíveis e específicas para detectar, identificar e quantificar vírus e antígenos virais em amostras clínicas ou culturas celulares (imuno-histoquímica). Especificamente, anticorpos monoclonais ou monoespecíficos são úteis para a distinção dos vírus. Antígenos virais na superfície da célula ou em seu interior podem ser detectados por **imunofluorescência** e por **imunoensaio enzimático** (EIA, do inglês, *enzyme imunoassay*) (Cap. 6, Figs. 6-2 e 6-3). Vírus ou antígenos liberados de células infectadas podem ser detectados por **ensaio imunoabsorvente ligado a enzima** (ELISA, do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay*), **radioimunoensaio** (RIA, do inglês, *radioimmunoassay*) e por **aglutinação em látex** (LA, do inglês, *latex agglutination*) (definições no Cap. 6). *Kits* de diagnóstico para um ou diversos (multiplex) agentes virais estão disponíveis comercialmente. *Kits* multiplex para vírus respiratórios podem ajudar a determinar se há terapia antiviral disponível. *Kits* rápidos de detecção semelhantes ao ELISA, similares a testes de gravidez, estão disponíveis para influenza e HIV.

A detecção do CMV e de outros vírus pode ser amplificada pelo uso de uma combinação de cultura celular e métodos imunológicos. Nesse método, a amostra clínica é centrifugada sobre células cultivadas em uma lamínula no fundo de um tubo de ensaio (*shell vial*). Esse procedimento aumenta a eficiência e acelera a progressão da infecção das células sobre a lamínula. As células podem, então, ser analisadas por imunofluorescência (**fluorescência direta**) ou EIA para a pesquisa de

antígenos virais precoces, que são detectáveis dentro de 24 horas, em vez dos 7-14 dias necessários para que os ECPs se tornem evidentes.

Detecção de Material Genético Viral

A sequência genética de um vírus é a principal característica de distinção da família, do tipo e da cepa de vírus (Quadro 39-4). Os padrões eletroforéticos de ácido ribonucleico (RNA) (influenza, reovírus) ou tamanho dos fragmentos de restrição por endonucleases dos genomas virais de DNA são como impressões digitais genéticas para esses vírus. Cepas diferentes de HSV-1 e HSV-2 podem ser diferenciadas por **polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição**. Novos métodos para detecção de genoma viral usam sondas genéticas específicas para cada sequência e abordagens por amplificação do DNA ou do RNA semelhantes à PCR, que permitem a análise e a quantificação mais rápidas, com um risco mínimo, do vírus infeccioso. Os métodos para o sequenciamento de genomas ou partes de vírus tornaram-se rápidos e baratos o suficiente para se estabelecerem como um método de identificação viral de rotina.

As **sondas de DNA**, com sequências complementares a regiões específicas de um genoma viral, podem ser usadas de modo similar a anticorpos, como ferramentas sensíveis e específicas para a detecção de um vírus. Essas sondas podem detectar o vírus mesmo na ausência da replicação viral. A análise por sondas de DNA é especialmente útil para detectar vírus não produtivos ou de replicação lenta, como o CMV e o papilomavírus humano, ou quando o antígeno viral não pode ser detectado por meio de testes imunológicos (Cap. 5, Fig. 5-3). Sequências genéticas virais específicas em amostras de biópsia de tecido fixado e permeabilizado podem ser detectadas por *hibridização in situ* (p. ex., **hibridização fluorescente** *in situ* (FISH]).

Os genomas virais também podem ser detectados em amostras clínicas com o uso de *dot blot* ou *Southern blot*. Neste último método, o genoma viral ou os fragmentos do genoma clivados por endonucleases de restrição são separados por eletroforese e transferidos para membranas de nitrocelulose e, a seguir, detectados nas membranas por sua hibridização com sondas de DNA. O RNA viral separado por eletroforese (*Northen blot*: hibridização com sondas de RNA:DNA) e transferido para uma membrana de nitrocelulose pode ser detectado de modo semelhante. As sondas de DNA são detectadas por autorradiografia ou métodos fluorescentes ou ainda por métodos semelhantes ao EIA. Já estão disponíveis comercialmente muitas sondas virais e *kits* para detecção de vírus.

Para muitos laboratórios, o método de escolha para a detecção, quantificação e identificação de vírus utiliza técnicas de amplificação de genoma, incluindo PCR para genomas de DNA e PCR de transcriptase reversa (RT-PCR) para genomas de RNA. O uso de oligonucleotídeos (*primers*) apropriados para PCR pode promover amplificação de um milhão de vezes de uma sequência-alvo em poucas horas. Essa técnica é especialmente útil para detectar sequências latentes e integradas de vírus, como retrovírus, herpes-vírus, papilomavírus e outros papovavírus, bem como revelar vírus presentes em baixas concentrações e de vírus cujo isolamento seja muito difícil ou perigoso em culturas celulares. A técnica de RT-PCR usa a transcriptase reversa retroviral para converter RNA viral em DNA e permitir a amplificação por PCR das sequências de ácido nucleico viral. RT-PCR foi muito útil para identificar e distinguir os hantavírus que causaram um surto no Novo México em 1993. Essas técnicas são facilmente automatizadas para analisar múltiplas amostras e diferentes vírus (multiplex) e combinadas com técnicas rápidas para a detecção e sequenciamento de produtos de DNA da PCR. A análise dos ácidos nucleicos virais amplificados também está sendo realizada utilizando espectrometria de massa de tempo de voo por dessorção/ionização a *laser* matriz-assistido (MALDI-TOF MS).

PCR em tempo real é um meio rápido de quantificar o número de genomas em um paciente (carga viral). A concentração de genoma viral (genomas de RNA são convertidos em DNA) é proporcional à taxa inicial de amplificação por PCR do DNA genômico. Esse teste diagnóstico é especialmente importante para o acompanhamento do curso da infecção por HIV.

A PCR é o protótipo para várias outras técnicas de amplificação do genoma do HIV. A **amplificação baseada na transcrição** usa transcriptase reversa e *primers* com sequências virais específicas para produzir um DNA complementar (DNAc) e associa uma sequência reconhecida pela RNA polimerase DNA-dependente do bacteriófago T7. O DNA é transcrito em RNA pela T7 RNA polimerase, e os novos fragmentos de RNA formados são então ciclados na reação para amplificar a sequência relevante. Diferentemente da PCR, essas reações não exigem equipamento especial.

Algumas outras abordagens de amplificação e detecção de genomas apresentam conceitos semelhantes aos do ELISA. Essas abordagens usam sequências imobilizadas de DNA complementares a uma sequência genômica viral relevante para capturar o genoma viral, seguidas pela ligação de outra sequência complementar que contém um sistema de detecção. A sonda (sequência genômica) pode ser ligada a uma **cadeia de DNA ramificada** de forma extensiva, na qual cada um dos ramos da cadeia provoca uma reação que amplifica o sinal para níveis detectáveis. Este tipo de ensaio é chamado de b-DNA (*branched-DNA* ou DNA ramificado). Outra variação sobre o mesmo tema utiliza um anticorpo que reconhece complexos de DNA-RNA para capturar híbridos de sondas de DNA-RNA virais no poço de uma placa e, em seguida, reação com anticorpos marcados com enzimas e métodos de ELISA para detectar a presença do genoma. Como o ELISA, esses métodos podem ser automatizados e programados para analisar um painel de vírus.

Sorologia Viral

A resposta imune humoral fornece a história das infecções de um paciente. Estudos sorológicos são usados para a identificação de vírus difíceis de serem isolados e cultivados em cultura celular, bem como vírus que causam doenças de

longa duração (p. ex., EBV, HBV, HIV) (Quadro 6-2). A sorologia pode ser usada para identificar o vírus e sua cepa ou sorotipo, para diferenciar doença aguda de crônica e ainda para determinar se a infecção é primária ou se trata de uma reinfecção. A detecção de anticorpos imunoglobulina (Ig)M específicos para um vírus, que estão presentes durante as 2-3 primeiras semanas de uma infecção primária, geralmente indica infecção primária recente. A soroconversão é indicada por, pelo menos, um aumento de quatro vezes no título de anticorpos entre o soro obtido durante a fase aguda da doença e aquele obtido pelo menos 2-3 semanas mais tarde, durante a fase de convalescença. Reinfecção ou recorrência em outro momento da vida do paciente provoca uma resposta de memória (secundária ou de reforço). Os títulos de anticorpos podem permanecer elevados em pacientes que sofrem recorrências frequentes de uma doença (p. ex., herpes-vírus).

Em consequência da imprecisão inerente de ensaios sorológicos baseados em diluições seriadas que dobram o fator de diluição, é necessário aumento de quatro vezes no título de anticorpos entre a fase aguda e a convalescente para indicar a soroconversão. Por exemplo, amostras com 512 e 1.023 unidades de anticorpos gerariam, ambas, um sinal de diluição de 512 vezes, mas não de 1.024 vezes, e suas titulações seriam relatadas como 512. Por outro lado, amostras com 1.020 e 1.030 unidades não são significativamente diferentes, mas seriam relatadas com titulações de 512 e 1.024, respectivamente.

A presença de anticorpos para vários antígenos virais essenciais e suas titulações podem ser usadas para identificar o estágio da doença causada por certos vírus. Essa abordagem é especialmente útil para o diagnóstico de doenças virais de evolução lenta (p. ex., hepatite B, mononucleose infecciosa causada pelo vírus Epstein-Barr [EBV]) (Caps. 43 e 55). Em geral, os primeiros anticorpos a serem detectados são direcionados contra os antígenos mais evidentes para o sistema imune (p. ex., aqueles expressos no vírion ou em superfícies de células infectadas). Posteriormente no curso da infecção, quando as células já sofreram lise em decorrência de vírus infectante ou à resposta imune celular, são detectados anticorpos dirigidos contra as proteínas e enzimas virais intracelulares. Por exemplo, os anticorpos contra antígenos do envelope e capsídeo do EBV são detectados primeiro. Depois, durante a convalescença, são detectados anticorpos contra antígenos nucleares, como o antígeno nuclear do EBV.

Um painel ou bateria sorológica que consista em ensaios para vários vírus pode ser usado para o diagnóstico de certas doenças. Fatores epidemiológicos locais, época do ano e fatores do paciente, como imunocompetência, história de viagens e idade, influenciam a escolha dos ensaios virológicos a serem incluídos num painel. Por exemplo, o HSV e os vírus da caxumba, da encefalite equina ocidental e oriental e das encefalites de St. Louis, do oeste do Nilo e da Califórnia poderiam ser incluídos em um painel de exames para doenças do sistema nervoso central.

Métodos de Exames Sorológicos

Os exames sorológicos usados em virologia são apresentados no Capítulo 6, Quadro 6-1. A **neutralização** e os **testes HI** pesquisam os anticorpos com base em seu reconhecimento e ligação ao vírus. O revestimento do vírus por anticorpos bloqueia sua ligação às células indicadoras (Fig. 39-6). A neutralização de vírus por anticorpos inibe a infecção e os subsequentes efeitos citopatológicos em células de cultura de tecidos. Na HI, a presença de anticorpos no soro impede que uma quantidade padronizada do vírus se ligue aos eritrócitos e provoque sua aglutinação.

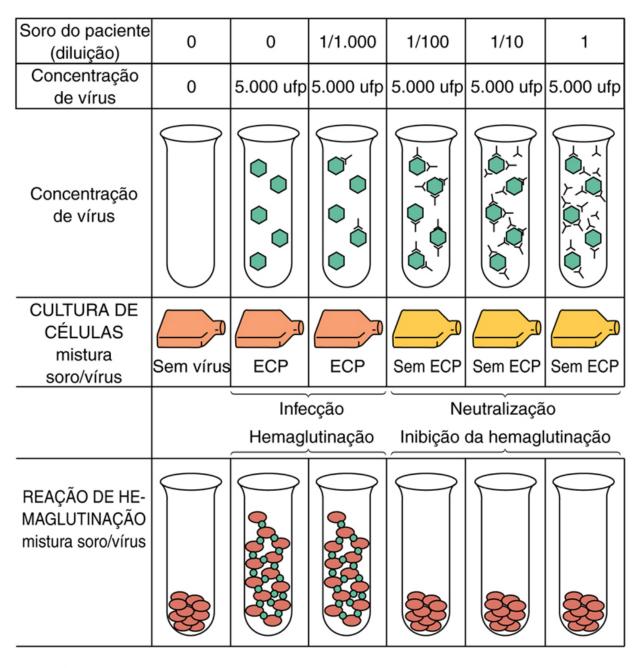


FIGURA 39-6 Ensaios de neutralização, hemaglutinação e inibição da hemaglutinação. No ensaio apresentado, diluições de 10 vezes de soro foram incubadas com vírus. Alíquotas da mistura foram então acrescentadas às culturas celulares ou eritrócitos. Na ausência de anticorpos, o vírus infectou a monocamada (indicada pelo efeito citopatológico [ECP]) ou provocou a hemaglutinação (ou seja, formou uma suspensão de eritrócitos semelhante a um gel). Na presença dos anticorpos, a infecção foi bloqueada, impedindo o ECP (neutralização), ou a hemaglutinação foi inibida, permitindo que os eritrócitos se precipitassem. O título de anticorpos no soro foi de 100 ufp (unidades formadoras de placa).

O exame indireto por anticorpos fluorescentes e imunoensaios de fase sólida, como aglutinação em látex e ELISA, são usados com frequência para detectar e quantificar antígenos virais e anticorpos antivirais. O teste de ELISA é usado para triagem do suprimento de sangue para excluir indivíduos que são soropositivos para os vírus das hepatites B e C e do HIV. A análise por *Western blot* tornou-se muito importante para confirmar a soroconversão e, portanto, a infecção por HIV. A capacidade dos anticorpos do paciente de reconhecer proteínas virais específicas separadas por eletroforese, transferidas para uma membrana (p. ex., nitrocelulose, náilon) e visualizadas pela adição de um anticorpo anti-humano conjugado com enzima, confirma o diagnóstico, indicado pelo ELISA, de infecção por HIV (Fig. 39-7).

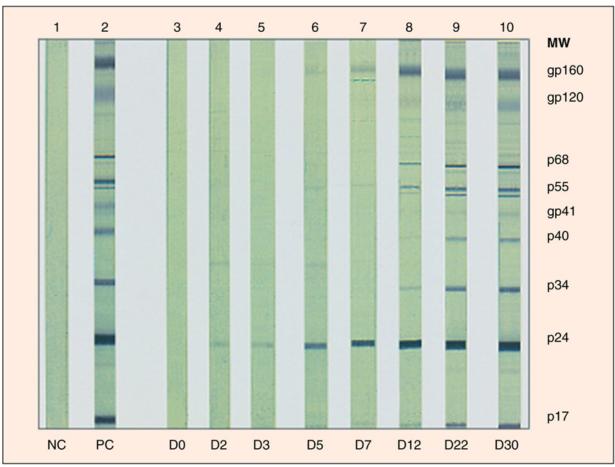


FIGURA 39-7 Análise por Western blot de antígenos e anticorpos contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Os antígenos proteicos do HIV são separados por eletroforese e transferidos para tiras de papel de nitrocelulose. Cada tira é então incubada com anticorpos do paciente, lavada para remover os anticorpos não ligados e, a seguir, submetida à reação com anticorpos anti-humanos conjugados a enzimas e com um substrato cromóforo. O soro de uma pessoa infectada por HIV liga-se e identifica as principais proteínas antigênicas do HIV. Esses dados demonstram a soroconversão de um indivíduo infectado com HIV com soros coletados no dia 0 (D0) ao dia 30 (D30), comparados com um controle sabidamente positivo (PC) e um controle negativo (NC). MW, peso molecular. (De Kuritzkes DR: Diagnostic tests for HIV infection and resistance assays. In Cohen J, Powderly WG: Infectious diseases, ed 2, St.Louis, 2004, Mosby.)

Limitações dos Métodos Sorológicos

A presença de um anticorpo antiviral indica infecção prévia, mas não é suficiente para indicar quando essa infecção ocorreu. O achado de IgM específica para o vírus, o aumento de quatro vezes no título de anticorpos entre soros coletados na fase aguda e convalescente, ou perfis específicos de anticorpos, são indicativos de infecção recente. Resultados falsos positivos ou falsos negativos podem confundir o diagnóstico. Além disso, os anticorpos do paciente podem estar ligados aos antígenos virais (como ocorre em pacientes com hepatite B) formando imunocomplexos, impedindo assim a sua detecção. As reações sorológicas cruzadas entre vírus diferentes também podem confundir a identidade do agente infectante (p. ex., o vírus da parainfluenza e o vírus da caxumba expressam antígenos relacionados). Por outro lado, os anticorpos utilizados no ensaio podem ser muito específicos (a maioria anticorpos monoclonais) e não reconhecer cepas virais da mesma família, fornecendo um resultado falso negativo (p. ex., rinovírus). Boa compreensão dos sintomas clínicos e conhecimento das limitações e dos problemas potenciais com ensaios sorológicos auxiliam o diagnóstico adequado.

Referências Bibliográficas

Caliendo AM. Multiplex PCR and emerging technologies for the detection of respiratory pathogens. *Clin Infect Dis.* 2011;52(Suppl 4):S326–S330.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 3 Oxford, England: Oxford University Press; 2006.

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. ed 12 St Louis: Mosby; 2007.

Hsiung GD. Diagnostic virology. ed 3 New Haven, Conn: Yale University Press; 1982.

Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Fields virology. ed 5 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Leland DS, Ginocchio CC. Role of cell culture for virus detection in the age of technology. Clin Microbiol Rev. 2007;20:49–78.

Lennette EH. Laboratory diagnosis of viral infections. ed 3 New York: Marcel Dekker; 1999.

Menegus MA. Diagnostic virology. In: Belshe RB, ed. Textbook of human virology. ed 2 St Louis: Mosby; 1991.

Murray PR. Pocket guide to clinical microbiology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2004.

Persing DH, Tenover FC, Tang Y-W, et al. *Molecular microbiology: diagnostic principles and practice*. ed 2 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Specter S, Hodinka RL, Wiedbrauk DL, et al. *Clinical virology manual*. ed 4 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Versalovic J. Manual of clinical microbiology. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

Websites

Leland DS, Ginocchio CC: Role of cell culture for virus detection in the age of technology. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1797634/. Acessado em 16 de abril de 2015.

Stannard L: Viruses in cell culture. http://virology-online.com/general/Tests.htm. Acessado em 28 de maio de 2015.

CAPÍTULO 40

Agentes Antivirais e Controle de Infecção

Os vírus, ao contrário das bactérias, são parasitas intracelulares obrigatórios que usam o mecanismo biossintético e as enzimas das células do hospedeiro para se replicar (Cap. 36). Assim, é mais difícil inibir a replicação viral sem causar toxicidade ao hospedeiro. A maioria dos fármacos antivirais tem como alvo as enzimas codificadas pelos vírus ou estruturas virais que sejam importantes para a replicação. A maior parte desses compostos representa inibidores bioquímicos clássicos de enzimas codificadas pelos vírus. Alguns fármacos antivirais são, na verdade, estimuladores das respostas protetoras imunes inatas do hospedeiro.

Os fármacos antivirais estão disponíveis para vírus que causam morbidade e mortalidade significativas, fornecendo alvos razoáveis para a ação medicamentosa (Quadro 40-1), mas, ao contrário dos fármacos antibacterianos, a atividade da maior parte dos fármacos antivirais é limitada a um vírus específico. Muitos fármacos antivirais causam efeitos secundários graves devido à sua toxicidade. Como já ocorreu com os fármacos antibacterianos, a resistência aos fármacos antivirais está se transformando em um problema, por causa do alto índice de mutação dos vírus e do tratamento a longo prazo de alguns pacientes, especialmente os imunocomprometidos (p. ex., pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS, acquired immunodeficiency syndrome]).



Picornavírus

Quadro 40-1 Vírus Tratáveis com Fármacos Antivirais

Vírus do herpes simples Vírus varicela-zóster Citomegalovírus Vírus da imunodeficiência humana Vírus influenza A e B Vírus sincicial respiratório Vírus das hepatites B e C Papilomavírus

Alvos para Fármacos Antivirais

Os diferentes alvos para os antivirais (p. ex., estruturas, enzimas, processos importantes ou essenciais para a produção do vírus) são discutidos quanto aos passos do ciclo de replicação viral que esses fármacos inibem. Esses alvos e seus respectivos agentes antivirais são apresentados na Tabela 40-1 (Cap. 36, Fig. 36-8).



Exemplos de Alvos para Fármacos Antivirais

Passo da Replicação ou Alvo	Agente	Vírus-alvo
Fixação à célula-alvo	Análogos de peptídeos de proteínas do anexo	HIV (CCR5 correceptor antagonista)
	Anticorpos neutralizantes	A maioria dos vírus
	Heparan e sulfato de dextran	HIV, HSV
Penetração e desnudamento	Amantadina, rimantadina	Vírus influenza A
	Tromantadina, docosanol	HSV
	Arildona, disoxaril, pleconaril	Picornavírus
Transcrição	Interferon	HCVs, papilomavírus
	Polimerase de RNA	HCV
	Oligonucleotídeos antissense	_
Hipermutação/análogos da guanosina	Ribavirina	HCV, vírus sincicial respiratório, vírus da febre de Lassa
Síntese da proteína	Interferon	HCV, papilomavírus
Replicação do DNA (polimerase)	Análogos de nucleosídeos	Herpes-vírus; HIV; vírus da hepatite B; poxvírus etc.
	Fosfonoformato, ácido fosfonoacético	Herpes-vírus
Captação de nucleosídeos (timidina quinase)	Análogos de nucleosídeos	HSV, vírus varicela-zóster
Montagem (protease)	Análogos de substrato hidrofóbico	HIV, HCV
Montagem (neuraminidase)	Oseltamivir, zanamivir	Vírus influenza A e B

CCR5, receptor de quimiocina CC 5; DNA, ácido desoxirribonucleico; HCV, vírus da hepatite C; HIV, vírus da imunodeficiência humana; HSV, vírus do herpes simples.

Ruptura do Vírion

Os vírus envelopados são suscetíveis a certos lipídios e moléculas semelhantes a detergentes que dispersam ou rompem a membrana do envelope, evitando a aquisição do vírus. Os rinovírus são suscetíveis aos ácidos, e o ácido cítrico pode ser incorporado aos lenços faciais como meio de bloquear a transmissão viral.

Fixação à Célula-alvo

Na replicação viral, o primeiro passo é mediado pela interação de uma proteína de ligação viral com seu receptor de superfície celular. Essa interação pode ser bloqueada por **anticorpos de neutralização**, que se ligam às proteínas virais de ligação, ou por **antagonistas de receptores**. A administração de anticorpos específicos (**imunização passiva**) é a forma mais antiga de terapia antiviral. Os antagonistas de receptores incluem peptídeos ou açúcares análogos ao receptor da célula ou à proteína de fixação viral que bloqueia, competitivamente, a interação do vírus com a célula. Os compostos que se ligam ao receptor de quimiocina 5 (CCR5) bloqueiam a ligação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) com os macrófagos e algumas células T CD4, evitando a infecção inicial. Polissacarídeos ácidos (p. ex., heparan, sulfato de dextran) interferem na adesão viral e foram sugeridos para o tratamento de infecções por HIV, vírus do herpes simples (HSV) e outros vírus.

Penetração e Desnudamento

Para que o genoma viral chegue ao citoplasma da célula do hospedeiro, é preciso haver a penetração e o desnudamento do vírus. Arildona, disoxaril, **pleconaril** e outros compostos **metilisoxazólicos** bloqueiam o desnudamento dos picornavírus ajustando-se a uma fenda no cânion do receptor de ligação presente no capsídeo, evitando assim a desmontagem deste. Para os vírus que penetram por vesículas endocíticas, o desnudamento pode ser desencadeado por alterações conformacionais em proteínas de ligação que promovem a fusão, ou por ruptura da membrana resultante do ambiente ácido da vesícula. **Amantadina, rimantadina** e outras aminas hidrofóbicas (bases orgânicas fracas) são agentes antivirais que podem neutralizar o pH desses compartimentos e inibir o desnudamento do vírion. A amantadina e a rimantadina apenas têm atividade contra a influenza A. Esses compostos ligam-se e bloqueiam o canal de íon hidrogênio (H⁺) formado pela proteína viral M₂. Sem o influxo de H⁺, as proteínas da matriz de M₁ não se dissociam do nucleocapsídeo (desnudamento), impedindo o movimento do nucleocapsídeo para o núcleo, a transcrição e a replicação. O bloqueio desse

poro de próton também rompe o processamento apropriado da proteína hemaglutinina mais tarde, no ciclo de replicação. Na ausência de um poro de próton M_2 funcional, a hemaglutinina altera sua conformação para sua "forma de fusão", sendo inativada ao atravessar o ambiente normalmente ácido do complexo de Golgi. O **docosanol** inibe a fusão dos vírus envelopados, incluindo o HSV, com as membranas celulares. A **tromantadina**, um derivativo da amantadina, também inibe a penetração do HSV. A penetração e o desnudamento do HIV são bloqueados por um peptídeo de 33 aminoácidos, o T20 (**enfuvirtida** [Fuzeon®]), que inibe a ação da proteína de fusão viral, a gp41.

Síntese de RNA

Embora a síntese do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) seja essencial para a produção do vírus, ela não é um bom alvo para os fármacos antivirais. Seria difícil inibir a síntese do RNAm viral sem afetar a síntese do RNAm celular. Os vírus do ácido desoxirribonucleico (DNA) usam as transcriptases da célula do hospedeiro para a síntese do RNAm. A maior parte das RNA polimerases codificadas pelos vírus de genoma RNA podem não ser suficientemente diferentes das transcriptases do hospedeiro para serem inibidas seletivamente; além disso, o alto índice em que estes vírus sofrem mutações resulta na geração de muitas cepas resistentes aos fármacos. O **sofosbuvir**, um pró-fármaco para um análogo de nucleosídeo, foi recentemente aprovado como um inibidor da polimerase do vírus da hepatite C. A **guanidina** e a **2-hidroxibenzilbenzimidina** são dois compostos que podem bloquear a síntese do RNA do picornavírus ao aderirem à proteína 2C desse vírus, a qual é essencial para a síntese do RNA. A **ribavirina** lembra a riboguanosina e promove a hipermutação e inibe a biossíntese dos nucleosídeos, o tamponamento (*capping*) do RNAm e outros processos (celulares e virais) importantes para a replicação de muitos vírus.

O processamento apropriado (*splicing*) e a translação do RNAm viral podem ser inibidos por interferon e oligonucleotídeos *antissense*. A **isatina-β-tiossemicarbazona** induz a degradação do RNAm em células infectadas por poxvírus e já foi usada como tratamento para a varíola. A infecção viral de uma célula tratada com **interferon** desencadeia uma cascata de eventos bioquímicos que bloqueiam a replicação viral. Especificamente, a degradação do RNAm viral e celular é intensificada e a montagem ribossômica é bloqueada, evitando a síntese proteica e a replicação viral. O interferon é apresentado mais detalhadamente no Capítulo 10. O interferon e indutores artificiais de interferon (**Ampligen®**, **poli rI:rC**) estão sendo aprovados para uso clínico (papiloma, hepatites B e C) ou estão em estudos clínicos.

Replicação do Genoma

A maioria dos fármacos antivirais são análogos de nucleosídeos, os quais são nucleosídeos com modificações da base, do açúcar ou de ambos (Fig. 40-1). As DNA polimerases virais do herpes- vírus e as transcriptases reversas dos vírus HIV e do vírus da hepatite B (HBV) são os alvos principais para a maioria dos fármacos antivirais, pois são essenciais à replicação dos vírus e diferentes das enzimas do hospedeiro. Antes de serem usados pela polimerase, os análogos de nucleotídeos devem ser fosforilados para a forma de trifosfato por enzimas virais (p. ex., a timidina quinase do HSV), enzimas celulares, ou ambas. Por exemplo, a timidina quinase do HSV e do varicela-zóster (VZV) aplica o primeiro fosfato ao aciclovir (ACV), e as enzimas celulares aplicam os restantes. Mutantes de HSV sem atividade da timidina quinase são resistentes ao ACV. As enzimas celulares fosforilam a azidotimidina (AZT) e muitos outros análogos de nucleosídeos.

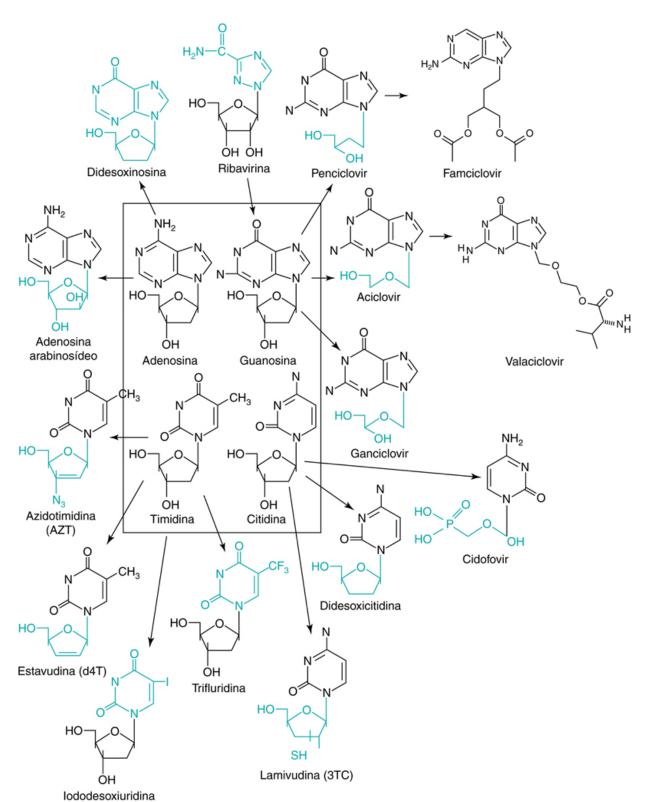


FIGURA 40-1 Estrutura dos análogos de nucleosídeos mais comuns que atuam como fármacos antivirais. As distinções químicas entre o desoxinucleosídeo natural e os análogos dos fármacos antivirais estão em destaque. As setas indicam os fármacos relacionados. O valaciclovir é o éster de I-valil do aciclovir. O fanciclovir é o diacetil 6-desoxianálogo do penciclovir. Esses dois fármacos são metabolizados em fármaco ativo no fígado ou na parede intestinal.

Análogos de nucleosídeos inibem seletivamente as polimerases virais, pois essas enzimas são menos precisas que as enzimas das células do hospedeiro. A enzima viral liga-se aos análogos de nucleosídeo com modificações da base, do açúcar ou de ambos, centenas de vezes melhor em enzimas virais do que em enzimas da célula do hospedeiro. Esses fármacos evitam o alongamento da cadeia, como resultado da ausência de uma hidroxila na posição 3' do açúcar, ou alteram o reconhecimento e o pareamento da base, como resultado de uma modificação basal, e induzem mutações inativantes (Fig. 40-1). A hipermutação de um genoma viral por um fármaco antiviral (como ribavirina) é o equivalente a substituir cada quatro letras, em um ensaio, por uma letra aleatória. Os fármacos antivirais, que causam o término da cadeia do DNA por meio de resíduos de açúcar de nucleosídeos modificados, incluem ACV, ganciclovir (GCV), valaciclovir, penciclovir, fanciclovir, adefovir, cidofovir, adenina arabinosídeo (vidarabina, ara-A), zidovudina (AZT), lamivudina (3TC), didesoxicitidina e didesoxinosina. Os fármacos antivirais que se incorporam ao genoma viral e causam erros de replicação

(mutações) e de transcrição (RNAm e proteínas inativas) por causa das bases modificadas de nucleosídeos incluem **ribavirina**, **5-iododesoxiuridina** (**idoxuridina**) e **trifluorotimidina** (**trifluridina**). A taxa rápida e grande extensão de incorporação de nucleotídeos pela polimerase codificada pelo HIV e pelo herpes-vírus tornam esses vírus especialmente suscetíveis a tais fármacos. Vários outros análogos de nucleosídeos estão sendo também desenvolvidos como fármacos antivirais.

Os análogos de pirofosfato que se assemelham ao produto derivado da reação da polimerase, como o ácido fosfonofórmico (foscarnet, PFA) e ácido fosfonoacético, são inibidores clássicos das polimerases do herpesvírus. Nevirapina, delavirdina e outros inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa aderem a pontos na enzima que não o local do substrato, agindo como inibidores não competitivos da enzima.

As enzimas captadoras de desoxirribonucleotídeos (p. ex., a timidina quinase e a ribonucleosídeo redutase dos herpesvírus) também são alvos enzimáticos dos fármacos antivirais. A inibição dessas enzimas reduz os níveis de desoxirribonucleotídeos necessários à replicação do genoma do vírus de DNA, evitando a replicação viral.

A **integração** do DNAc do HIV ao cromossomo do hospedeiro catalisado pela enzima integrase viral é essencial para a replicação viral. Um inibidor da integrase já está aprovado para a terapia anti-HIV.

Síntese de Proteína

Embora a síntese proteica das bactérias seja o alvo para muitos compostos antibacterianos, a síntese da proteína viral não é um alvo tão propício para os fármacos antivirais. Os vírus usam os ribossomos das células do hospedeiro e mecanismos sintéticos para replicação, de modo que a inibição seletiva não é possível. O **interferon** (**IFN**)-α e o **IFN**-β detêm o vírus ao promoverem a inibição da síntese proteica na célula infectada pelo vírus. A inibição da modificação pós-translacional de proteínas, como a proteólise de uma poliproteína vírica (**inibidores da protease**) ou processamento da glicoproteína (castanospermina, desoxinojirimicina), também pode inibir a replicação do vírus. O **boceprevir** e o **telaprevir** são dois novos inibidores da protease para o tratamento do vírus da hepatite C (HCV). As proteases de outros vírus, especialmente HIV (ver mais adiante), também são alvos para fármacos antivirais.

Montagem e Liberação de Vírions

A **protease do HIV** é única e **essencial** à montagem de vírions e à produção de partículas virais infecciosas. A modelagem molecular computadorizada foi usada para desenhar inibidores da protease do HIV, como **saquinavir**, **ritonavir** e **indinavir** (*navir*, "**sem vírus**"), que se encaixam no ponto ativo da enzima. As estruturas da enzima foram definidas por cristalografia de raios X e estudos de biologia molecular.

A neuraminidase da gripe é essencial para evitar a agregação das glicoproteínas virais e permitir a sua incorporação no envelope. O zanamivir (Relenza®) e o oseltamivir (Tamiflu®) atuam como inibidores enzimáticos e, diferentemente da amantadina e da rimantadina, podem inibir os vírus influenza A e B. A amantadina e a rimantadina inibem também a liberação da influenza A.

Estimuladores de Respostas Imunes Inatas do Hospedeiro

A estimulação ou a suplementação da resposta natural é uma abordagem eficaz para limitar ou tratar infecções virais. As respostas inatas de células dendríticas, macrófagos e outras células podem ser estimuladas por **imiquimode**, **resiquimode** e **oligodesoxinucleotídeos CpG**, que aderem a receptores *Toll-like* para estimular a liberação de citocinas protetoras, a ativação de células *natural killer* e subsequentes respostas imunes mediadas por células. O **interferon** e os indutores de interferon, incluindo os polinucleotídeos e o RNA de dupla fita (p. ex., **Ampligen®**, **poli rI:rC**) facilitam o tratamento de doenças crônicas relacionadas com hepatite C e papilomavírus. Os **anticorpos**, adquiridos naturalmente ou por imunização passiva (Caps. 10 e 11), evitam tanto a aquisição quanto a disseminação do vírus. Por exemplo, administra-se imunização passiva após exposição aos vírus da raiva, ao vírus da hepatite A (HAV) e ao HBV.

Análogos de Nucleosídeos

A maioria dos fármacos antivirais aprovados nos Estados Unidos pela Food and Drug Administration (FDA) (Tabela 40-2) representa análogos de nucleosídeos que inibem as polimerases virais. A resistência ao fármaco é normalmente causada por uma mutação da polimerase.



Algumas Terapias com Fármacos Antivirais Aprovados nos Estados Unidos pela Food and Drug Administration

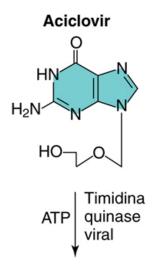
Vírus	Fármaco Antiviral	Nome Comercial
Vírus do Herpes Simples e Varicela-zóster	Aciclovir*	Zovirax®
	Valaciclovir*	Valtrex®
	Penciclovir	Denavir®
	Fanciclovir*	Famvir®
	Trifluridina	Viroptic®
Citomegalovírus	Ganciclovir	Cytovene®
	Valganciclovir	Valcyte®
	Cidofovir	Vistide®
	Fosfonoformato (foscarnet)	Foscavir®
Vírus Influenza A	Amantadina	Symmetrel®
	Rimantadina	Flumadine®
Vírus Influenza A e B	Zanamivir	Relenza®
	Oseltamivir	Tamiflu®
Vírus da Hepatite B Crônica	Lamivudina	Epivir®
	Adefovir dipivoxil	Hepsera®
Vírus da Hepatite C	Interferon- α , ribavirina	Vários
	Boceprevir	Victrelis®
	Telaprevir	Incivek®
	Sofosbuvir	Sovaldi®
Papilomavírus	Interferon- α	Vários
Vírus Sincicial Respiratório e Vírus Lassa	Ribavirina	Virazole®
Picornavírus	Pleconaril	Picovir®
Vírus da Imunodeficiência Humana [†]		
Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos	Azidotimidina (zidovudina)	Retrovir®
	Didesoxinosina (didanosina)	Videx®
	Didesoxicitidina (zalcitabina)	Hivid®
	Estavudina (d4T)	Zerit®
	Lamivudina (3TC)	Epivir®
Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos	Nevirapina	Viramune®
	Delavirdina	Rescriptor®
Inibidores da protease	Saquinavir	Invirase®
	Ritonavir	Norvir®
	Indinavir	Crixivan®
	Nelfinavir	Viracept®
Inibidores da integrase	Raltegravir	Isentriss®
Antagonista do correceptor CCR5	Maraviroc	Selzentry®
Inibidor de fusão	Enfuvirtida	Fuzeon®

CCR5, receptor de quimiocina CC 5.

^{*} Ativo também contra o vírus varicela-zóster.

[†] Existe uma lista mais completa no Capítulo 54.

O ACV (acicloguanosina) e seu derivado valil, o valaciclovir, diferem em formas farmacológicas. O ACV difere do nucleosídeo guanosina por possuir uma cadeia lateral acíclica (hidroxietoximetila), em vez de um açúcar ribose ou desoxirribose. O ACV tem ação seletiva contra o HSV e o VZV, herpes-vírus que codificam a timidina quinase (Fig. 40-2). A timidina quinase viral ativa o fármaco por fosforilação, e as enzimas da célula hospedeira completam a progressão para a forma de difosfato e, por fim, para a forma de trifosfato. Como não há fosforilação inicial em células não infectadas, não há fármaco ativo para inibir a síntese do DNA celular ou causar toxicidade. O trifosfato de ACV acarreta término da cadeia do DNA viral em crescimento, pois não há o grupo 3'-hidroxila na molécula do ACV para permitir o alongamento da cadeia. A toxicidade mínima do ACV também resulta do seu uso superior (100 vezes ou mais) pela DNA polimerase viral quando comparado ao seu uso pelas DNA polimerases celulares. A resistência ao ACV se desenvolve por mutação na timidina quinase, impedindo a ativação do ACV, ou na DNA polimerase, evitando, dessa maneira, a ligação do ACV.



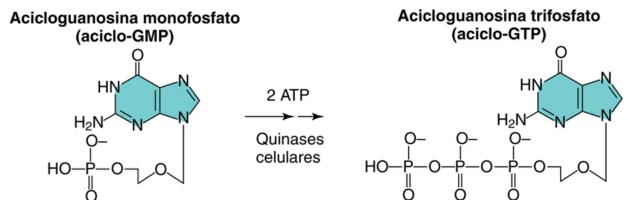


FIGURA 40-2 Ativação do aciclovir (ACV) (acicloguanosina) em células infectadas pelo vírus do herpes simples. O ACV é convertido em acicloguanosina monofosfato (aciclo-GMP) pela timidina quinase viral herpesespecífica e a seguir em acicloguanosina trifosfato (aciclo-GTP) pelas quinases celulares. ATP, trifosfato de adenosina.

O ACV é eficaz contra todas as infecções por HSV, incluindo encefalite, herpes disseminado e outras doenças herpéticas graves. O fato de não ser um elemento tóxico para células não infeccionadas permite sua aplicação, assim como de seus análogos, como tratamento profilático para evitar surtos recorrentes, especialmente em pessoas imunocomprometidas. Pode-se evitar um episódio recorrente se o surto for tratado antes de ou logo após o início dos eventos desencadeantes. O ACV inibe a replicação do HSV, mas não pode resolver a infecção latente por HSV.

O **valaciclovir**, o éster valil derivado do ACV, é absorvido com mais eficiência após administração oral, sendo convertido rapidamente em ACV, aumentando, assim, a biodisponibilidade do ACV para o tratamento de HSV e casos sérios de VZV. O ACV e o valaciclovir também podem ser usados para o tratamento da infecção por VZV, embora sejam necessárias doses mais altas. O VZV é menos sensível ao agente, em parte porque a fosforilação do ACV pela timidina cinase do VZV é menos eficiente.

O **penciclovir** inibe o HSV e o VZV da mesma forma que o ACV, mas é concentrado e persiste por mais tempo que o ACV nas células infectadas. O penciclovir também exerce alguma atividade contra o vírus Epstein-Barr e contra o citomegalovírus (CMV). O **fanciclovir** é um pró-fármaco derivado do penciclovir que é bem absorvido por via oral, sendo então convertido em penciclovir no fígado ou no revestimento intestinal. A resistência ao penciclovir e ao fanciclovir se desenvolve da mesma maneira que para o ACV.

Ganciclovir

O GCV (di-hidroxipropoximetil guanina) difere do ACV por possuir um único grupo hidroximetila na cadeia lateral acíclica (Fig. 40-1). O resultado notável dessa adição é o fato de ela conferir atividade considerável contra o CMV. Esse vírus não codifica a timidina quinase, mas uma outra proteína quinase do CMV fosforila o GCV. Uma vez ativado pela fosforilação, o GCV inibe todas as DNA polimerases de herpes-vírus. Essas DNA polimerases virais possuem quase 30 vezes mais afinidade pelo fármaco que a DNA polimerase celular. Semelhante ao ACV, um éster valil do GCV (valganciclovir) foi desenvolvido para melhorar as propriedades farmacológicas do GCV.

O GCV é eficaz no tratamento da retinite por CMV e mostra alguma eficácia no tratamento de esofagite, colite e pneumonia por CMV em pacientes com AIDS. Entretanto, o potencial para a medula óssea e outros tipos de toxicidades limita o uso desse fármaco. É interessante observar que a toxicidade potencial tem sido usada como base para o desenvolvimento de terapia antitumoral. Em uma aplicação, um gene da timidina quinase do HSV foi incorporado às células de um tumor cerebral por meio de um vetor de retrovírus. O retrovírus se replicou somente nas células tumorais em crescimento e a timidina quinase foi expressa somente nas células do tumor, tornando-as suscetíveis ao GCV.

Cidofovir e Adefovir

O cidofovir e o adefovir são análogos de nucleotídeo e contêm um fosfato ligado ao análogo do açúcar. Isso elimina a necessidade da fosforilação inicial por uma enzima viral. Os compostos com esse tipo de análogo de açúcar são substratos para as DNA polimerases ou transcriptases reversas virais, e têm um espectro expandido de vírus suscetíveis. O cidofovir, um análogo da citidina, está aprovado para infecções de CMV em pacientes com AIDS, mas também pode inibir a replicação de poliomavírus e papilomavírus e inibe a polimerase viral dos herpes-vírus, adenovírus e poxvírus. O adefovir e o dipivoxil adefovir (um pró-fármaco diéster) são análogos da adenosina e estão aprovados para tratamento contra o HBV.

Azidotimidina

Desenvolvido originalmente como um fármaco anticâncer, o AZT foi a primeira terapia útil para a infecção por HIV. O AZT (Retrovir®), um análogo de nucleosídeo da timidina, inibe a transcriptase reversa do HIV (Fig. 40-1). Semelhante a outros nucleosídeos, o AZT deve ser fosforilado pelas enzimas das células do hospedeiro. Ele não tem a 3'-hidroxila necessária para o alongamento da cadeia de DNA e evita a síntese do DNA complementar. O efeito terapêutico seletivo do AZT se baseia na sensibilidade 100 vezes menor da DNA polimerase celular do hospedeiro em comparação com a transcriptase reversa do HIV.

O tratamento oral contínuo com AZT é administrado às pessoas infectadas com HIV e contagens reduzidas das células T CD4 para evitar a progressão da doença. O tratamento de gestantes HIV-positivas com AZT pode reduzir a probabilidade ou prevenir a transmissão do vírus ao bebê. Os efeitos colaterais do AZT variam de náuseas à toxicidade da medula óssea potencialmente fatal.

A alta taxa de erros da polimerase do HIV cria mutações extensas e promove o desenvolvimento de cepas resistentes ao fármaco antiviral. Esse problema está sendo tratado pela administração de terapia com vários fármacos como tratamento inicial (**terapia antirretroviral altamente ativa [HAART**, *higly active antiretroviral therapy*]). É muito difícil para o HIV desenvolver resistência a vários fármacos com múltiplas enzimas-alvo. As cepas de HIV resistentes a múltiplos fármacos têm a probabilidade de serem mais fracas que as cepas que as originaram.

Didesoxinosina, Didesoxicitidina, Estavudina e Lamivudina

Vários outros análogos de nucleosídeos foram aprovados como agentes anti-HIV. A **didesoxinosina** (didanosina) é um análogo de nucleosídeo que é convertido em trifosfato de didesoxiadenosina (Fig. 40-1). Semelhantemente ao AZT, a didesoxinosina, a **didesoxicitidina** e a **estavudina** (d4T) não possuem o grupo 3'-hidroxila. O açúcar modificado e anexado à **lamivudina** (2'-desoxi-3'-tiacidina [3TC]) também inibe a transcriptase reversa do HIV, evitando o alongamento da cadeia do DNA e a replicação do HIV. Esses fármacos estão disponíveis para o tratamento da AIDS em pacientes que não respondem à terapia com AZT, ou podem ser administrados em combinação com o AZT. A lamivudina é também ativa contra a polimerase transcriptase reversa do HBV. A maioria dos agentes anti-HIV tem efeitos colaterais potencialmente tóxicos.

Ribavirina

A **ribavirina** é um análogo do nucleosídeo guanosina (Fig. 40-1), mas difere deste pelo fato de seu anel básico ser incompleto e aberto. Semelhante a outros análogos de nucleosídeos, a ribavirina precisa ser fosforilada. O fármaco é ativo *in vitro* contra ampla variedade de vírus.

O monofosfato de ribavirina se parece com o monofosfato de guanosina e inibe a biossíntese do nucleosídeo, o tamponamento (capping) do RNAm e outros processos importantes para a replicação de muitos vírus. A ribavirina reduz os estoques celulares de guanina pela inibição da inosina monofosfato desidrogenase, que é uma enzima importante na via sintética desse nucleosídeo. O fármaco também previne a síntese de RNAm com a modificação 5'-cap por interferir na guanilação e na metilação das bases de ácido nucleico. Além disso, o trifosfato de ribavirina inibe as RNA polimerases e

promove a hipermutação do genoma viral. Seus múltiplos pontos de ação podem explicar a ausência de mutantes resistentes à ribavirina.

A ribavirina é administrada em aerossol em crianças com broncopneumonia grave causada por vírus sincicial respiratório e pode ser utilizada em adultos com quadros sérios de gripe ou sarampo. O fármaco pode ser efetivo para o tratamento da influenza B e das febres hemorrágicas de Lassa, de Rift Valley, da Crimeia-Congo, da Coreia e da Argentina, para as quais a administração é oral ou intravenosa. A ribavirina está aprovada para o uso contra o HCV em combinação com o IFN- α e inibidores da protease. No tratamento pode haver sérios efeitos colaterais.

Outros Análogos de Nucleosídeos

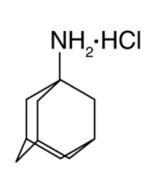
Idoxuridina, trifluorotimidina (Fig. 40-1) e fluorouracil são análogos da timidina. Esses fármacos (1) inibem a biossíntese da timidina, um nucleotídeo essencial para a síntese do DNA, ou (2) substituem a timidina e se incorporam ao DNA viral. Essas ações inibem a síntese do vírus ou causam erros extensos de leitura do genoma, resultando em mutação e inativação do vírus. Esses fármacos têm como alvo as células com intensa replicação de DNA, como as infectadas com HSV, e poupam do dano as células que não estejam em crescimento.

A **idoxuridina** foi o primeiro fármaco anti-HSV aprovado para uso em seres humanos, mas foi substituído pela **trifluridina** e por outros agentes mais eficazes e menos tóxicos. O **fluorouracil** é um fármaco antineoplásico que mata rapidamente as células em crescimento, mas que tem sido também usado para tratamento tópico de verrugas causadas pelo papilomavírus humano.

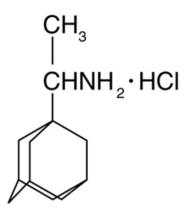
A adenina arabinosídeo foi o principal fármaco anti-HSV até à introdução do ACV, mas não é atualmente utilizada devido a dificuldades na administração e toxicidade. O Ara-A é um análogo de nucleosídeo de adenosina com uma arabinose em substituição a desoxirribose como açúcar (Fig. 40-1). Muitos outros análogos de nucleosídeos com atividade antiviral contra os herpes-vírus, o HBV e o HIV estão sendo investigados para uso clínico.

Inibidores da Polimerase do Tipo não Nucleosídeos

O foscarnet (PFA) e o ácido fosfonoacético (PAA) relacionado são compostos simples que lembram um pirofosfato (Fig. 40-3). Esses fármacos inibem a replicação viral ao aderirem ao ponto de ligação do pirofosfato na DNA polimerase, bloqueando a ligação dos nucleotídeos. Tanto o PFA quanto o PAA podem causar problemas renais e outras desordens por causa de sua habilidade em quelar íons divalentes de metal (p. ex., cálcio) e ser incorporados aos ossos. O PFA inibe a DNA polimerase de todos os herpes-vírus e a transcriptase reversa do HIV sem precisar ser fosforilado por nucleosídeos quinases (p. ex., a timidina quinase). O PFA foi aprovado para o tratamento de retinite causada por CMV em pacientes com AIDS.



Hidrocloreto de amantadina



Hidrocloreto de rimantadina

FIGURA 40-3 Estruturas de fármacos antivirais.

Ácido fosfonoacético

Nevirapina, delavirdina, efavirenz e outros não nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa aderem a pontos na enzima diferentes do local destinado ao substrato. Como os mecanismos de ação desses fármacos difirem daqueles dos análogos de nucleosídeos, o mecanismo de resistência do HIV aos agentes também é diferente. Como resultado, esses fármacos são muito úteis em combinação com análogos de nucleosídeos para o tratamento da infecção por HIV.

Inibidores da Protease

A estrutura peculiar da protease do HIV e seu papel essencial na produção de um vírion funcional transformaram essa enzima em um bom alvo para os fármacos antivirais. **Saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir** e outros agentes atuam deslizando para o interior do ponto hidrofóbico ativo da enzima para inibir sua ação. As cepas resistentes ao fármaco surgem por meio de mutações da protease. A utilização de inibidores da protease melhorou significativamente os resultados para pacientes com HIV. A combinação de um inibidor da protease com o AZT e um segundo análogo de nucleosídeo (HAART) pode reduzir os níveis do HIV no sangue para valores não detectáveis.

Os inibidores da protease (**boceprevir**, **telaprevir**, **simeprevir**) também estão melhorando as perspectivas para o tratamento de pacientes com hepatite C crônica.

Fármacos Anti-influenza

Amantadina e rimantadina são compostos anfipáticos de amina com eficácia clínica contra o vírus da influenza A, mas não contra o da influenza B (Fig. 40-3). Esses fármacos exercem vários efeitos sobre a replicação do influenza A. Ambos os compostos são acidotróficos, concentrando-se e tamponando o conteúdo das vesículas endossômicas envolvidas na absorção do vírus influenza. Esse efeito pode inibir as mudanças acidomediadas na conformação da proteína hemaglutinina que promove a fusão do envelope viral com as membranas celulares. Entretanto, a especificidade para o vírus da influenza A é o resultado de sua habilidade de ligação e bloqueio do canal de prótons formado pela proteína de membrana M₂ do vírus da influenza A. A resistência é o resultado de uma M₂ ou hemaglutinina alteradas.

A amantadina e a rimantadina podem ser úteis para melhorar a infecção por influenza A se forem administradas nas primeiras 48 horas de exposição. Eles também são úteis como terapia profilática na ausência de vacinação. Além disso, a amantadina é uma terapia alternativa para a doença de Parkinson. O principal efeito tóxico é no sistema nervoso central, com os pacientes sofrendo de nervosismo, irritabilidade e insônia.

O zanamivir (Relenza[®]) e o oseltamivir (Tamiflu[®]) inibem a influenza A e B como os inibidores da enzima da neuraminidase do vírus da gripe. Sem a neuraminidase para clivar o ácido siálico, a hemaglutinina do vírus se liga a esses açúcares em outras glicoproteínas, formando aglomerados e prevenindo a montagem e liberação do vírus. Esses fármacos podem ser tomados profilaticamente como uma alternativa para a vacinação ou, se administrados dentro das primeiras 48 horas de infecção, para reduzir a duração da doença. Mutações na neuraminidase causam resistência.

Imunomoduladores

Formas de IFN- α obtidas por meio de engenharia genética já foram aprovadas para uso humano. Os interferons atuam por ligação aos receptores da superfície das células e iniciam uma resposta celular antiviral. Além disso, eles estimulam a resposta imune e promovem a eliminação da infecção viral pelo sistema imunológico.

O IFN- α é ativo contra muitas infecções virais, incluindo as hepatites A, B e C, o HSV, o papilomavírus e o rinovírus. Ele foi aprovado para o tratamento de condiloma acuminado (verrugas genitais, uma apresentação do papilomavírus) e hepatite C (em terapia de combinação). A combinação de polietileno glicol com IFN- α (IFN- α peguilado) aumenta a potência desse agente. O IFN- α peguilado é usado com ribavirina para tratar infecções pelo vírus da hepatite C. O interferon natural causa sintomas semelhantes aos da gripe observados durante muitas infecções virêmicas e do trato respiratório, e o agente sintético tem efeitos colaterais semelhantes durante o tratamento. O interferon é discutido mais detalhadamente nos Capítulos 10 e 37.

O **imiquimode**, um ligante de receptor *Toll-like*, estimula respostas inatas para atacar a infecção viral. Essa abordagem terapêutica pode ativar respostas protetoras locais contra papilomas, que geralmente escapam ao controle imune.

Controle da Infecção

O controle da infecção é essencial em hospitais e locais de atendimento em saúde. A propagação dos vírus respiratórios é o mais difícil de prevenir. Isto pode ser controlado observando os seguintes passos:

- 1. Limitar o contato dos funcionários com fontes de infecção (p. ex., uso de luvas, máscaras, óculos de proteção e cuidados com locais de isolamento)
- 2. Aprimorar cuidados com relação a higiene, sanitização e desinfecção
- 3. Assegurar que todos os funcionários sejam imunizados contra as doenças mais comuns
- 4. Educar todos os funcionários sobre os pontos 1, 2 e 3, com intuito de diminuir comportamentos de risco

Os métodos para desinfecção diferem para cada vírus, dependendo da sua estrutura. A maioria deles é inativada por álcool a 70%, alvejante com cloro a 15%, gluteraldeído a 2%, formaldeído a 4% ou autoclavagem (como descrito no *Guidelines for Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis B Virus to Health-Care and Public-Safety Workers*, publicado em 1989 pelos U.S. Centers for Disease Control and Prevention [CDC]). A maioria dos envelopes virais não necessita de um tratamento rigoroso, sendo inativada por sabão e detergentes. Outros meios de desinfecção também estão disponíveis.

A manipulação de sangue humano requer precauções especiais "universais", isto é, todo sangue deve ser considerado como contaminado com HIV ou HBV e precisa ser manuseado com cuidado. Além desses procedimentos, cuidado especial deve ser tomado com as agulhas das seringas e as ferramentas cirúrgicas contaminadas com sangue. Orientações específicas estão disponíveis nos CDC.

O controle de um surto normalmente requer a identificação da fonte ou do reservatório do vírus, seguida por limpeza,isolamento, imunização ou uma combinação dessas ações. O primeiro passo para controlar um surto de gastroenterite ou de hepatite A é a identificação do alimento, água ou possivelmente a creche que é a origem do surto.

Os programas educacionais podem assegurar o cumprimento dos programas de imunização e ajudar as pessoas a mudar seu estilo de vida associado à transmissão viral. Esses programas têm impacto significativo na redução da prevalência de doenças que podem ser prevenidas por vacinação, como a varíola, a poliomielite, o sarampo, a caxumba e a rubéola. Esperase que os programas educativos promovam mudanças no estilo de vida e nos hábitos, a fim de restringir a transmissão sanguínea e sexual do HBV e do HIV.

Referências Bibliográficas

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 3 Oxford, England: Oxford University Press; 2006.

De Clercq E. A 40-year journey in search of selective antiviral chemotherapy. Ann Rev Pharmacol Toxicol. 2011;51:1–24.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Fields virology. ed 5 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Richman DD. Antiviral drug resistance. Antiviral Res. 2006;71:117–121.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human diseases. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

พพะมอแชอ

- New Medical Information and Health Information: Antiviral drugs: Antiviral agents, antiviral medications. http://drugs.nmihi.com/antivirals.htm. Acessado em 20 de abril de 2015.
- U.S. Food and Drug Administration: HBV and HCV. www.fda.gov/ForPatients/Illness/HepatitisBC/default.htm. Acessado em 20 de abril de 2015.
- U.S. Food and Drug Administration: HIV drugs. www.fda.gov/ForPatients/Illness/HIVAIDS/default.htm. Acessado em 20 de abril de 2015.
- U.S. Food and Drug Administration: Influenza (flu) antiviral drugs and related information. www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/InformationbyDrugClass/ucm100228.htm. Acessado em 20 de abril de 2015.

Papilomavírus e Poliomavírus

Uma mulher de 47 anos, divorciada, sexualmente ativa, é atendida em um exame ginecológico de rotina. Ela fuma um maço de cigarros por dia. Um esfregaço para o Papanicolaou (Pap) é realizado e o relatório indica lesão intraepitelial escamosa (LIE) de alto grau, que corresponde a uma displasia moderada e neoplasia intraepitelial cervical (NIC) de pontuação 2. A análise da reação em cadeia da polimerase (PCR) indica que as células na lesão estão infectadas com o papilomavírus humano 16 (HPV-16).

- 1. Que propriedades do HPV-16 promovem o desenvolvimento de câncer cervical?
- 2. Como é transmitido o vírus?
- 3. Qual é a natureza da resposta imune ao vírus?
- 4. Como a transmissão da doença pode ser evitada?

Um homem de 42 anos chega ao seu médico nove meses após um transplante de pulmão, queixando-se de visão dupla, dificuldade na fala, sensação de que os músculos não funcionam direito, dificuldade de equilíbrio, formigamento das mãos e pés e esquecimento das coisas. Um mês depois, ele tinha dificuldade com a fala e precisava de assistência para realizar as funções diárias normais. Suas funções físicas e mentais pioraram progressivamente. Ele foi tratado com cidofovir, e sua terapia imunossupressora foi facilitada, mas a doença progrediu para paralisia e ele morreu. Uma biópsia do cérebro mostrou lesões com pontos de desmielinização, astrocitose com núcleos atípicos e muitos histiócitos. A análise por PCR demonstrou a presença do poliomavírus JC na lesão, confirmando o diagnóstico de leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP).

- 5. Que propriedades do vírus JC promovem o desenvolvimento da LMP?
- 6. Por que essa doença também prevalece em indivíduos com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)? Quem está em risco para essa doença e por quê?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Papilomavírus

Palavras-gatilho

HPV, verrugas, coilócitos, câncer cervical, DST, CIN

Biologia, Virulência e Doença

- Capsídeo descoberto pequeno, genoma do DNA
- Proteínas E6 e E7 inativam p53 e RB para promover o crescimento celular
- O vírus é adquirido por contato íntimo e infecta as células epiteliais da pele ou membranas mucosas
- O tropismo tecidual e a apresentação da doença dependem do tipo de papilomavírus
- O vírus persiste na camada basal e, em seguida, produz vírus nos ceratinócitos diferenciados terminalmente
- Os vírus causam crescimento benigno de células em verrugas
- A infecção por HPV está oculta em respostas imunes e persiste
- As verrugas resolvem lenta mas espontaneamente, possivelmente como resultado da resposta imunitária
- Determinados tipos (HPV-16, HPV-18 etc.) estão associados a carcinoma cervical

Epidemiologia

- Transmitido por contato direto, contato sexual (doenças sexualmente transmissíveis), fômites, passagem pelo canal de parto infectado (papilomas da laringe, tipos 6 e 11)
- Verrugas comuns; DST
- Transmissão assintomática, encontrada em todo o mundo, sem incidência sazonal

Diagnóstico

• Análise genômica por PCR de esfregaços cervicais e amostras de tecido

Tratamento, Prevenção e Controle

• Vacinas para HPV tipos 16, 18; ou 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58

Poliomavírus

Palavras-gatilho

JCV: LMP, doenças oportunistas, oligodendrócitos anormais, desmielinização; BKV: rim

Biologia, Virulência e Doença

- Capsídeo descoberto pequeno, genoma do DNA
- O antígeno T inativa o p53 e RB para promover o crescimento celular
- O vírus é provavelmente adquirido por via respiratória ou oral, infecta amígdalas e linfócitos e dissemina-se por viremia para os rins precocemente na vida
- O vírus é ubíquo e as infecções são assintomáticas
- O vírus estabelece uma infecção persistente e latente em órgãos como rins e pulmões
- Em indivíduos imunocomprometidos, o vírus JC (JCV) é ativado, dissemina-se para o cérebro e causa uma leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP), uma doença viral lenta convencional
- Na LMP, o JCV transforma parcialmente os astrócitos e mata os oligodendrócitos, causando lesões características e locais de desmielinização
- As lesões da LMP são desmielinizadas, com grandes astrócitos incomuns e células oligodendríticas com núcleos muito grandes. O vírus BK é benigno, mas pode causar doença renal em pacientes imunocomprometidos

Epidemiologia

- Transmitido por inalação ou contato com água contaminada ou saliva
- Ubíquo; indivíduos imunocomprometidos em risco de LMP
- Encontrado em todo o mundo; sem incidência sazonal

Diagnóstico

• Presença de DNA viral amplificado por PCR no líquido cefalorraquidiano e RM ou TC com evidência de lesões

Tratamento, Prevenção e Controle

• Sem meios de controle

O que costumava ser chamado de **família papovavírus** (Papovaviridae) foi dividido em duas famílias, Papillomaviridae e Polyomaviridae (Tabela 41-1). Esses vírus são capazes de causar infecções líticas, crônicas, latentes e transformantes, dependendo da célula hospedeira. Os papilomavírus humanos (HPVs) causam **verrugas**, e vários genótipos estão associados ao câncer humano (p. ex., **carcinoma cervical**). Os vírus **BK (BKV)** e **JC (JCV)**, membros de **Polyomaviridae**, geralmente causam infecção assintomática, mas estão associados a doenças renais e à **leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP)**, respectivamente, em pessoas imunossuprimidas. O vírus símio 40 (SV40) é o protótipo do poliomavírus.



Tabela 41-1

Papilomavírus e Poliomavírus Humanos e suas Doenças

Vírus	Doença
Papilomavírus	Verrugas, condilomas, papilomas, câncer cervical, peniano e anal*
Poliomavírus	
Vírus BK	Doença renal [†]
Vírus JC	Leucoencefalopatia multifocal progressiva [†]
Vírus da célula de Merkel	Carcinoma das células de Merkel

^{*} Genótipos de alto risco estão presentes em 99,7% dos carcinomas.

Os papilomavírus e poliomavírus são vírus pequenos, não envelopados, com capsídeos icosaédricos, e seus genomas são formados por ácido desoxirribonucleico (DNA) circular de dupla fita (Quadro 41-1). Eles codificam as proteínas que promovem a multiplicação celular. A promoção da multiplicação celular facilita a replicação viral lítica em um tipo de célula permissiva, mas pode **transformar oncogenicamente uma célula não permissiva**. Os poliomavírus, especialmente o SV40, têm sido estudados extensivamente como modelos de vírus oncogênicos.

[†] A doença ocorre em imunossuprimidos.



Papilomavírus

Papilomavírus: HPV tipos de 1 a 100+ (conforme determinado pelo genótipo; tipos definidos pela homologia do DNA, tropismo tecidual e associação com oncogênese)

Poliomavírus: SV40, vírus JC, vírus BK, KI, WU, poliomavírus das células de Merkel (MCV)

Vírion com pequeno capsídeo icosaédrico

O genoma de DNA circular de dupla fita é replicado e montado no núcleo

Os vírus apresentam tropismos teciduais definidos, determinados por interações com receptores e pela maquinaria transcricional da célula

Os vírus codificam proteínas que promovem a multiplicação celular por se ligarem às proteínas supressoras de divisão celular, como p53 e p105RB (produto do gene de retinoblastoma p105); o antígeno T do polioma liga-se a p105RB e p53; a proteína E6 de alto risco do papilomavírus liga-se a p53, ativa a telomerase e suprime a apoptose, e a proteína E7 liga-se a p105RB

Os vírus podem causar infecções líticas em células permissivas, mas causam infecções abortivas, persistentes ou latentes, ou **imortalizam (transformam)** células não permissivas

Papilomavírus Humanos

Estrutura e Replicação

Os HPVs são distinguidos e agrupados por homologia da sequência de DNA. Pelo menos 100 tipos foram identificados e classificados em 16 grupos (A até P). O HPV pode ser ainda distinguido como **HPV cutâneo** ou **HPV da mucosa** com base nos tecidos suscetíveis. Entre os HPVs de mucosa, há um grupo relacionado com câncer cervical. Os vírus pertencentes a um mesmo grupo causam tipos semelhantes de verrugas.

O **capsídeo icosaédrico** do HPV tem de 50 a 55 nm de diâmetro e consiste em duas proteínas estruturais que formam 72 capsômeros (Fig. 41-1). O genoma do HPV é **circular** e tem aproximadamente 8.000 pares de bases. O DNA do HPV codifica sete ou oito genes precoces (*E1* a *E8*), dependendo do vírus, e dois genes tardios ou estruturais (*L1* e *L2*). Uma região regulatória a montante contém as sequências de controle para a transcrição, a sequência *N*-terminal compartilhada para as proteínas precoces e a origem da replicação. Todos esses genes estão localizados em uma fita (a fita positiva) (Fig. 41-2).

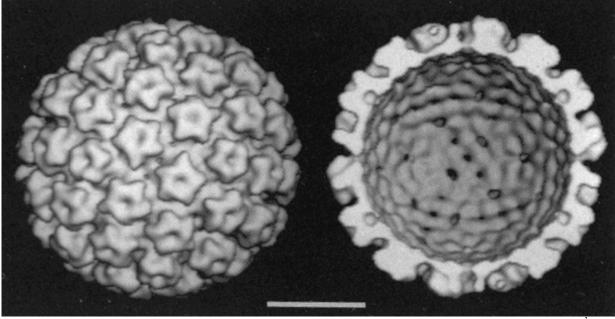


FIGURA 41-1 Reconstrução computadorizada de micrografia crioeletrônica do papilomavírus humano (HPV). À esquerda, imagem da superfície do HPV demonstra 72 capsômeros distribuídos em um icosadeltaedro. Todos os capsômeros parecem formar estrelas de cinco pontas regulares. À direita, corte transversal computadorizado do capsídeo mostra a interação dos capsômeros e dos canais no capsídeo. (De Baker TS, Newcomb WW, Olson NH, et al: Structures of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction, Biophys J60:1445–1456, 1991.)

O genoma é uma molécula circular de dupla fita.

A proteína E1 liga-se ao DNA na ori e promove a replicação do DNA viral e apresenta atividade de helicase (como o antígeno T do SV40).

A proteína E2 liga-se ao DNA, auxilia E1 e ativa a síntese do RNAm viral.

A oncoproteína E5 ativa o receptor EGF para promover a multiplicação. E4 rompe citoceratinas para promover a liberação. E6 e E7 de cepas de alto risco, p. ex., HPV-16 e HPV-18, podem tornar-se genes de imortalização e estão associados com câncer cervical humano.

Produtos dos genes L1 e L2 são proteínas estruturais tardias (capsídeos).

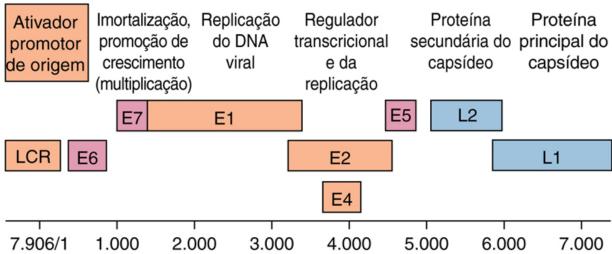


FIGURA 41-2 Genoma do papilomavírus humano tipo 16 (HPV-16). O DNA é normalmente uma molécula circular de dupla fita, mas aqui está mostrado de forma linear. *E5*, proteína oncogênica que aumenta a multiplicação celular por estabilização e ativação do receptor do fator de crescimento epidérmico. *E6*, proteína oncogênica que se liga a p53 e promove sua degradação; *E7*, proteína oncogênica que se liga a p105RB (produto do gene de retinoblastoma p105). *EGF*, fator de crescimento epidérmico; *L1*, proteína principal do capsídeo; *L2*, proteína secundária do capsídeo; *LCR* (URR), região longa de controle (região regulatória a montante); *ori*, origem da replicação.(Cortesia de Tom Broker, Baltimore.)

O ciclo de replicação do HPV está ligado ao ciclo de vida do ceratinócito e da célula epitelial da pele e mucosa. O vírus alcança a camada de células basais através de fissuras na pele (Fig. 41-3). A proteína L1 do HPV é a proteína de ligação viral e inicia a replicação por ligação a proteoglicanos de heparina e integrina α6 e outros receptores na superfície da célula. Os genes precoces do vírus estimulam a multiplicação celular, o que facilita a replicação do genoma viral pela DNA polimerase da célula hospedeira, quando as células se dividem. O aumento no número de células induzido pelo vírus causa o espessamento da camada basal (verruga, condiloma ou papiloma) e das células da camada espinhosa (estrato espinhoso). À medida que a célula basal se diferencia, os fatores nucleares específicos expressos em diferentes camadas e tipos de pele e mucosa promovem a transcrição de diferentes genes virais. A expressão dos genes virais correlaciona-se com a expressão de ceratinas específicas. Os genes tardios que codificam as proteínas estruturais são expressos apenas na camada superior terminalmente diferenciada, e o vírus é montado no núcleo. À medida que a célula da pele infectada amadurece e se direciona para a superfície, o vírus atravessa as camadas da pele, sendo liberado com as células mortas da camada superior.

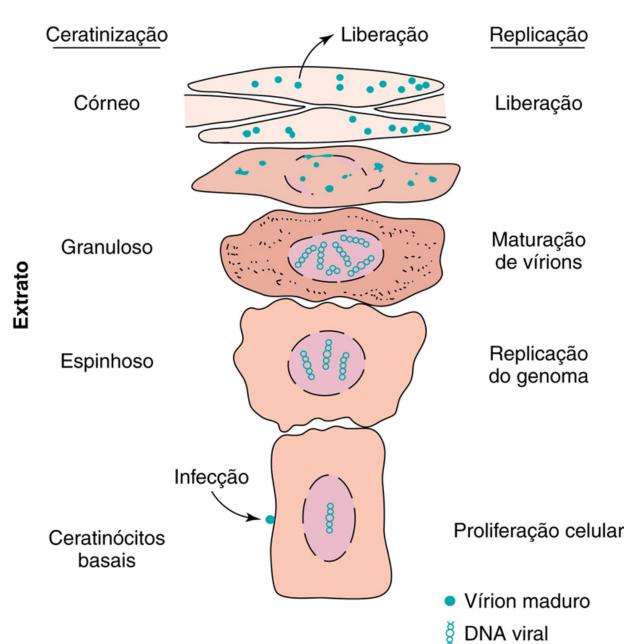


FIGURA 41-3 Desenvolvimento do papiloma (verruga). A infecção pelo papilomavírus humano promove o crescimento da camada basal, aumentando o número de células espinhosas (acantose). Essas alterações tornam a pele mais espessa e promovem a produção de ceratina (hiperceratose), formando assim projeções epiteliais (papilomatose). O vírus é produzido nas células granulares perto da camada final de ceratina.

Patogênese

Os papilomavírus infectam e se replicam no epitélio escamoso da pele (verrugas) e membranas mucosas (papilomas genitais, orais e conjuntivais) para induzir a proliferação epitelial. Os tipos de HPV são muito tecido-específicos, causando doenças de diferentes apresentações. A verruga se desenvolve como resultado do estímulo viral ao crescimento celular e do espessamento das camadas basal e espinhosa (estrato espinhoso), bem como do estrato granuloso. Os coilócitos, característicos da infecção por papilomavírus, são ceratinócitos ampliados com halos claros ao redor do núcleo condensado. Geralmente são necessários 3-4 meses para a verruga se desenvolver (Fig. 41-4). A infecção viral permanece localizada e, em geral, regride espontaneamente, mas pode recorrer. Os mecanismos patogênicos do HPV estão resumidos no Quadro 41-2.

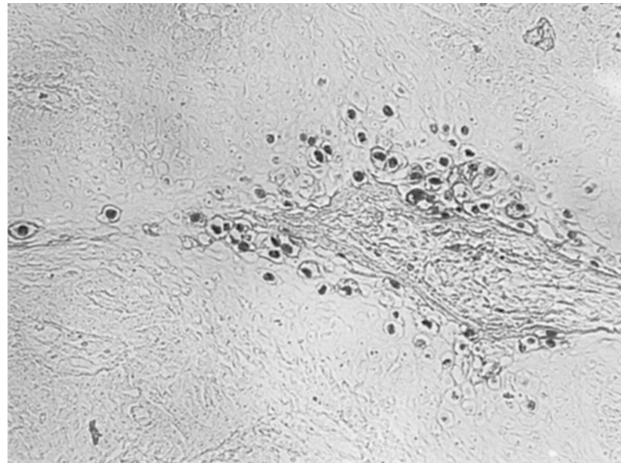


FIGURA 41-4 Análise por sonda de DNA de um condiloma anogenital induzido por um papilomavírus humano 6. Uma sonda de DNA marcada com biotina foi localizada pela conversão do substrato em precipitado cromogênico, por avidina conjugada com peroxidase de rábano. A coloração escura é vista sobre os núcleos das células coilocitóticas. (De Belshe RB: Textbook of human virology, ed 2, St Louis, 1991, Mosby.)



Quadro 41-2 Mecanismos Patológicos dos Papilomavírus e dos Poliomavírus

Papilomavírus

O virus é adquirido pelo contato direto e infecta as células epiteliais da pele ou das membranas mucosas.

O tropismo tecidual e a apresentação da doença dependem do tipo de papilomavírus.

O vírus persiste na camada basal e então produz vírus nos ceratinócitos terminalmente diferenciados.

Os vírus causam a multiplicação benigna das células, formando verrugas.

A infecção por HPV fica protegida da resposta imune e persiste.

As verrugas regridem espontaneamente, como resultado da resposta imune

Certos tipos estão associados a displasias, que podem tornar-se cancerígenas com a ação de cofatores.

O DNA de tipos específicos de HPV está presente (integrado) nos cromossomos de células tumorais.

Poliomavírus (JCV e BKV)

O vírus é adquirido através da rota respiratória ou oral, infecta amígdalas e linfócitos e se dissemina por viremia para os rins precocemente na vida,

O vírus é ubiquitário e as infecções são **assintomáticas**.

O vírus estabelece uma infecção persistente e latente em órgãos como os rins e pulmões.

Em indivíduos **imunocomprometidos**, o JCV é ativado, dissemina-se para o cérebro e causa **LMP**, uma doença viral lenta convencional.

Na LMP, o JCV transforma parcialmente os astrócitos e destrói os oligodendrócitos, causando lesões características e pontos de desmielinização.

As lesões da LMP são desmielinizadas, com astrócitos maiores de tamanho não usual e células oligodendrogliais com núcleo muito grande. O BKV é benigno, mas pode causar doença renal em pacientes imunocomprometidos.

As imunidades inata e celular são importantes para o controle e resolução das infecções por HPV. O HPV pode suprimir ou ocultar respostas imunes protetoras. Além dos níveis baixos de expressão do antígeno (exceto nas células da pele com diferenciação terminal, células "à beira da morte"), o ceratinócito é um local imunologicamente privilegiado para a replicação. As respostas inflamatórias são requeridas para ativar as respostas citolíticas de proteção e promover a resolução das verrugas. As pessoas imunossuprimidas têm recorrências e apresentações mais graves das infecções por papilomavírus. O anticorpo para a proteína L1 neutraliza o vírus. A imunoglobulina (Ig)G produzida por vacinação é segregada para o interior da vagina e pode proteger contra a infecção.

Os tipos de HPV de alto risco (p. ex., HPV-16, HPV-18; Tabela 41-2) podem iniciar o desenvolvimento do carcinoma cervical e cânceres de orofaringe, esôfago, pênis e ânus. O DNA viral é encontrado em tumores benignos e malignos, especialmente nos papilomas das mucosas. Quase todos os carcinomas cervicais contêm o DNA do HPV integrado, com 70% a partir de HPV-16 ou HPV-18. A quebra do genoma circular nos genes *E1* ou *E2* para promover a integração frequentemente faz com que esses genes sejam inativados, assim a replicação viral é impedida, sem impedir a expressão de outros genes do HPV, incluindo os genes *E5*, *E6* e *E7* (Fig. 41-5). As proteínas *E5*, *E6* e *E7* do HPV-16 e do HPV-18 têm sido identificadas como oncogenes. A proteína *E5* aumenta a multiplicação celular por meio da estabilização do receptor do fator de crescimento epidérmico para tornar as células mais sensíveis aos sinais de multiplicação, enquanto as proteínas *E6* e *E7* ligam e impedem a função das proteínas supressoras da multiplicação celular (supressoras de transformação), a p53 e o produto do gene de retinoblastoma *p105* (RB). A *E6* liga-se à proteína p53 e marca-a para a degradação, e *E7* se liga e inativa p105. O crescimento estimulado das células e a inativação de p53 tornam a célula mais suscetível à mutação, aberrações cromossômicas ou ação de um cofator, e, dessa forma, se transformam em câncer.



Tabela 41-2

Síndromes Clínicas Associadas a Papilomavírus

	Tipos de Papilomavírus Humano	
Síndrome	Comuns	Menos Comuns
Síndromes Cutâneas		
Verrugas Cutâneas		
Verruga plantar	1	2, 4
Verruga comum	2, 4	1, 7, 26, 29
Verruga plana	3, 10	27, 28, 41
Epidermodisplasia verruciforme	5, 8, 17, 20, 36	9, 12, 14, 15, 19, 21-25, 38, 46
Síndromes Mucosas		
Tumores Benignos de Cabeça e Pescoço		
Papiloma laríngeo	6, 11	-
Papiloma oral	6, 11	2, 16
Papiloma conjuntival	11	-
Verrugas Anogenitais		
Condiloma acuminado	6, 11	1, 2, 10, 16, 30, 44, 45
Neoplasia intraepitelial cervical, câncer (tipos de alto risco)	16, 18	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82

Modificada de Balows A, Hausler WJ Jr, Lennette EH, editors: *Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice*, vol 2, New York, 1988, Springer-Verlag. Dados dos Centers for Disease Control and Prevention: *Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases*, ed 12, Washington, DC, 2001, Public Health Foundation.

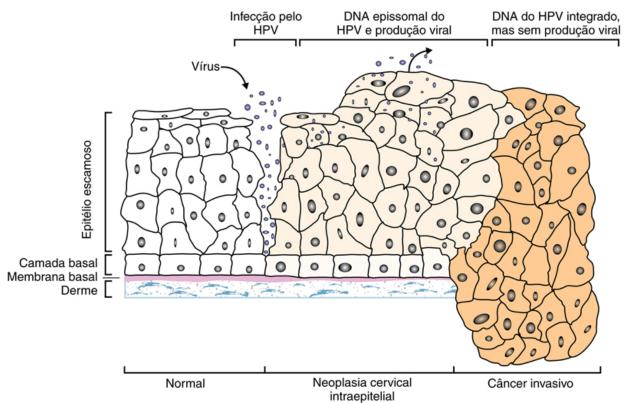


FIGURA 41-5 Progressão do carcinoma cervical mediado pelo papilomavírus humano (*HPV*). O HPV infecta e se replica nas células epiteliais da cérvix, amadurecendo e liberando o vírus à medida que a célula epitelial progride pela diferenciação terminal. A estimulação da multiplicação das células basais produz uma verruga. Em algumas células, o genoma circular se integra ao cromossomo do hospedeiro, inativando o gene *E2*, que é necessário para a replicação. A expressão de outros genes sem produção viral estimula a multiplicação das células e a possível progressão para neoplasia. (Adaptada de Woodman CBJ, Collins SI, Young LS: The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues, *Nat Rev Cancer* 7:11–22, 2007.)

Epidemiologia

O HPV resiste à inativação e pode ser transmitido por objetos contaminados (fômites), como as superfícies de bancadas ou móveis, pisos de banheiros e toalhas (Quadro 41-3). A liberação assintomática pode promover a transmissão. A infecção por HPV é adquirida (1) por contato direto através de pequenas fissuras na pele ou na mucosa, (2) durante a relação sexual, ou (3) enquanto um bebê está passando através do canal de parto infectado.



Quadro 41-3 Epidemiologia dos Poliomavírus e dos Papilomavírus

Doença/Fatores Virais

O vírus com capsídeo é resistente à inativação.

O vírus persiste no hospedeiro.

Provável eliminação assintomática.

Transmissão

Papilomavírus: **contato direto, contato sexual** (doença sexualmente transmissível) para alguns tipos de vírus, ou passagem através do canal de parto infectado para os papilomas laríngeos (tipos 6 e 11),

Poliomavírus: inalação ou contato com água contaminada, fezes, urina ou saliva.

Quem Está sob Risco?

Papilomavírus: verrugas são comuns; pessoas sexualmente ativas estão sob risco de infecção com tipos de papilomavírus relacionados com cânceres orais e genitais.

Poliomavírus: ubiquitário; pessoas imunocomprometidas correm risco de leucoencefalopatia multifocal progressiva.

Geografia/Estação Climática

Os vírus são encontrados em todo o mundo.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Vacinas para os tipos 6, 11, 16 e 18 do HPV.

As verrugas comuns, plantares e planas, são mais prevalentes em crianças e adultos jovens. Os papilomas laríngeos ocorrem em crianças e adultos de meia-idade.

O HPV é possivelmente a infecção sexualmente transmissível mais prevalente no mundo, havendo certos tipos de HPV comuns entre os homens e as mulheres sexualmente ativos. Pelo menos 20 milhões de pessoas nos Estados Unidos estão infectadas por HPV, com cerca de seis milhões de novos casos de infecção genital por ano. O HPV está presente em 99,7% de todos os casos de cânceres cervicais, com HPV-16 e HPV-18 em 70% deles. Outros genótipos de alto risco são mais prevalentes em diferentes grupos socioétnicos. Um estudo recente indica que os tipos de HPV de alto risco mais comuns para mulheres afro-americanas são os 33, 35, 58 e 68. Outras estirpes de alto risco estão relacionadas na Tabela 41-2. Os tipos de HPV de alto risco também estão presentes nos cânceres de orofaringe, pênis e ânus. O HPV-6 e o HPV-11 são os tipos de HPV de baixo risco para carcinoma cervical, mas ocasionam condiloma acuminado e oral e papilomas de laringe. O carcinoma cervical é a segunda causa principal de morte por câncer em mulheres (≈ 12.000 casos e 4.000 mortes por ano nos Estados Unidos). Em torno de 5% de todos os exames de Papanicolaou contêm células infectadas com HPV, e 10% das mulheres infectadas por tipos de HPV de alto risco desenvolverão **displasia** cervical, um estado pré-cancerígeno. Múltiplos parceiros sexuais, tabagismo, história familiar de câncer cervical e imunossupressão são os principais fatores de risco para a infecção e a progressão para o câncer.

Síndromes Clínicas

As síndromes clínicas e os tipos de HPV que as causam encontram- se resumidos na Tabela 41-2.

Verrugas

Verruga é uma proliferação benigna e autolimitada da pele que regride com o tempo. A maioria das pessoas com infecção pelo HPV tem os tipos mais comuns do vírus (de HPV-1 a HPV-4), que infectam as superfícies ceratinizadas, geralmente as mãos e os pés (Fig. 41-6). A infecção inicial ocorre na infância ou no início da adolescência. O período de incubação antes de uma verruga se desenvolver pode ser tão longo como 3-4 meses. A aparência da verruga (abaulada, plana ou plantar) depende do tipo de HPV e do local infectado.



FIGURA 41-6 Verrugas comuns. (De Habif TP: Clinical dermatology: a color guide to diagnosis and therapy, St Louis, 1985, Mosby.)

Tumores de Cabeça e Pescoço

Os papilomas orais únicos são os tumores epiteliais mais benignos da cavidade oral. Eles são pedunculados com uma haste fibrovascular e sua superfície geralmente tem aparência áspera e papilar. Podem ocorrer em pessoas de qualquer faixa etária, são geralmente solitários e raramente se repetem após excisão cirúrgica. Os **papilomas de laringe** são comumente associados a HPV-6 e HPV-11 e são os tumores epiteliais mais benignos da laringe. A infecção em crianças ocorre provavelmente no nascimento e pode ameaçar a vida, visto que os papilomas podem obstruir as vias aéreas. Ocasionalmente, os papilomas podem ser encontrados mais abaixo, na traqueia e nos brônquios. Cerca de 80% dos **carcinomas da orofaringe** contêm DNA de HPV de alto risco.

Verrugas Anogenitais

As verrugas anogenitais (condilomas acuminados) ocorrem quase exclusivamente sobre o epitélio escamoso dos órgãos genitais externos e regiões perianais e são comuns para indivíduos promíscuos. Cerca de 90% são causados por HPV-6 e HPV-11. As lesões anogenitais infectadas com esses tipos de HPV podem ser problemáticas, mas raramente se tornam malignas em pessoas saudáveis. As verrugas anais e penianas podem evoluir para o câncer se causadas por estirpes oncogênicas de HPV de alto risco.

Displasia Cervical e Neoplasia

A infecção por HPV do trato genital é uma doença sexualmente transmissível muito comum. A infecção é, em geral, assintomática, mas pode resultar em prurido leve. As verrugas genitais podem aparecer como verrugas macias (moles) e de coloração castanha, com formatos planos e, às vezes, em forma de couve- flor. As verrugas podem aparecer dentro de semanas ou meses após o contato sexual com uma pessoa infectada. As alterações citológicas indicando infecção por

HPV (células coilocitóticas) são detectadas em esfregaços cervicais com coloração de Papanicolaou (exame de Papanicolaou) (Fig. 41-7). A infecção do trato genital feminino por HPV do tipo de alto risco está associada a neoplasia cervical intraepitelial e câncer. As primeiras alterações neoplásicas observadas à microscopia óptica são denominadas de displasia. Aproximadamente 40% a 70% das displasias leves regridem espontaneamente.

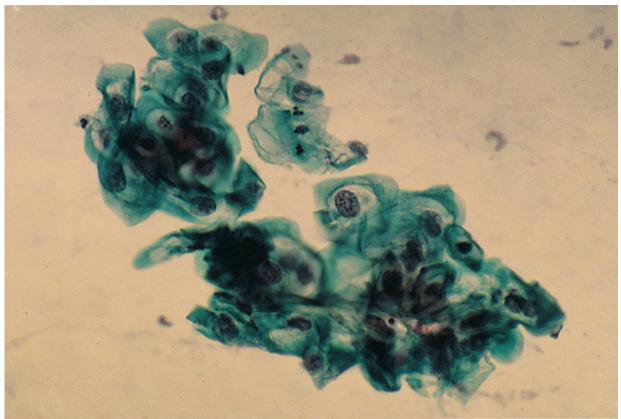


FIGURA 41-7 Coloração de Papanicolaou de uma raspagem cervicovaginal de células epiteliais escamosas, mostrando a vacuolização citoplasmática perinuclear denominada *coilocitose* (citoplasma vacuolizado), que é característica da infecção por papilomavírus humano (aumentado 400 vezes).

O câncer cervical se desenvolve por meio de alterações celulares contínuas e progressivas, desde neoplasias leves (neoplasia intraepitelial cervical [NIC I]) a moderadas (NIC II) e neoplasias graves ou carcinoma *in situ* (Fig. 41-5). Essa sequência de eventos pode ocorrer ao longo de 1-4 anos. A realização do exame de Papanicolaou de forma rotineira e regular pode promover a detecção, o tratamento e cura precoces do câncer cervical.

Diagnóstico Laboratorial

A verruga pode ser confirmada microscopicamente com base em sua aparência histológica característica, que consiste em hiperplasia de **células espinhosas** e excesso de produção de ceratina (**hiperceratose**) (Fig. 41-7). A infecção por papilomavírus pode ser detectada em esfregaços de Papanicolaou e pela presença de células epiteliais coilocitóticas escamosas (citoplasma vacuolizado), que são arredondadas e ocorrem em aglomerados (Tabela 41-3; Fig. 41-4). O uso de **sondas moleculares de DNA**, análise da **reação em cadeia da polimerase (PCR) e PCR em tempo real** de material coletado da região cervical e espécimes de tecido são os métodos de escolha para o estabelecimento do diagnóstico e da tipagem da infecção por HPV. Os papilomavírus não crescem em culturas de células, e os exames para estudar anticorpos de HPV são raramente usados, exceto em pesquisas científicas.



Diagnóstico Laboratorial de Infecções por Papilomavírus

Teste	Detecção	
Citologia	Células coilocitóticas	
Análise por sonda de DNA in situ*	Ácido nucleico viral	
Reação em cadeia da polimerase*	Ácido nucleico viral	
PCR em tempo real	Ácido nucleico viral	
Hibridização por Southern blot	Ácido nucleico viral	
Cultura	Sem utilidade	

^{*} Método de escolha.

Tratamento, Prevenção e Controle

As verrugas regridem espontaneamente, mas a regressão pode levar muitos meses ou anos. As verrugas são removidas em consequência de dor e desconforto, por razões estéticas e para evitar que se espalhem para outras partes do corpo ou para outras pessoas. Elas são removidas através do uso de crioterapia cirúrgica, eletrocauterização ou por meios químicos (p. ex., solução de 10% a 25% de podofilina), embora as recidivas sejam comuns. A cirurgia pode ser necessária para a remoção de papilomas laríngeos.

Estimuladores de respostas inatas e inflamatórias como **imiquimode** (Aldara®), **interferon** e até mesmo o uso de fita adesiva podem promover uma cicatrização mais rápida. O uso tópico ou intralesional (no interior das lesões) de **cidofovir** pode tratar as verrugas pela destruição seletiva das células infectadas por HPV. O cidofovir induz a apoptose por meio da inibição da DNA polimerase da célula hospedeira.

A imunização com qualquer vacina tetravalente (Gardasil®: HPV-6, -11, -16 e -18), nonavalente (Gardasil® 9: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58) ou divalente (Cervarix®: HPV-16 e -18) contra o HPV é recomendada para meninas e meninos, começando aos 11 anos — antes da atividade sexual — para evitar câncer cervical e verrugas penianas e anogenitais. As vacinas consistem na principal proteína do capsídeo L1 montada dentro de partículas semelhantes ao vírus. As mulheres vacinadas não são protegidas contra todas as cepas de HPV possíveis. A vacina do HPV **não é um substituto para o exame de Papanicolaou**, logo as mulheres devem continuar a fazer o teste. Atualmente, a melhor maneira de prevenir a transmissão das verrugas é evitar entrar em contato direto com tecidos infectados. Precauções adequadas (p. ex., o uso de preservativos) podem evitar a transmissão sexual do HPV.

Polyomaviridae

Os poliomavírus humanos, **BKV** e **JCV**, são ubiquitários (universais), mas normalmente não causam doença. Os poliomavírus humanos menos prevalentes incluem o KI, o WU e os poliomavírus de células de Merkel. Os vírus humanos são difíceis de crescer em cultura celular. O SV40 (um poliomavírus símio) e o poliomavírus murino, em particular, têm sido extensivamente estudados como modelos de vírus causadores de tumores, mas só recentemente um poliomavírus foi associado a cânceres humanos.

Estrutura e Replicação

Os poliomavírus são menores (45 nm de diâmetro), contêm menos ácido nucleico (5.000 pares de bases) e são menos complexos do que os papilomavírus (Quadro 41-1). Os genomas do BKV, do JCV e do SV40 são fortemente relacionados e são divididos em regiões precoce, tardia e não codificadora (Fig. 41-8). A região precoce em uma fita codifica **proteínas** não estruturais **T** (**transformação**) (incluindo antígenos **grandes T**, **T**'e **antígenos pequenos** *t*), e a região tardia, que se localiza em outra fita, codifica **três proteínas do capsídeo viral** (**VP1**, **VP2** e **VP3**) (Quadro 41-4). A região não codificadora contém a origem da replicação do DNA e sequências de controle de transcrição para ambos os genes, precoces e tardios.

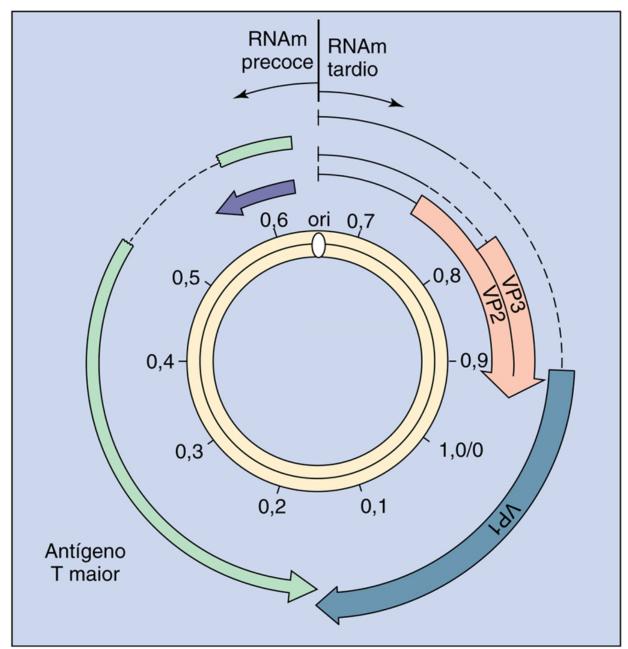


FIGURA 41-8 Genoma do vírus SV40. O genoma é um protótipo de outros poliomavírus e contém regiões precoces, tardias e não codificadoras. A região não codificadora contém a sequência iniciadora para os genes precoce e tardio e para a replicação do DNA (*ori*). Os RNAms individuais precoce e tardio são processados a partir dos transcritos aninhados (*nested*) maiores. (Modificada de Butel JS, Jarvis DL: The plasma-membrane-associated form of SV40 large tumor antigen: biochemical and biological properties, *Biochim Biophys Acta*865:171–195, 1986.)



Quadro 41-4 Proteínas dos Poliomavírus

Precoces

Grande T: regulação da transcrição precoce e tardia de RNA mensageiro; replicação do DNA; promoção da multiplicação e transformação celular

Pequeno t: replicação do DNA viral

Tardias

VP1: proteína principal do capsídeo e proteína de ligação viral

VP2: proteína secundária do capsídeo VP3: proteína secundária do capsídeo

Para infectar as células da glia, o JCV se liga aos carboidratos sializados e aos receptores de serotonina e, então, entra na célula por endocitose. O DNA genômico não revestido penetra no núcleo. Os genes precoces codificam os antígenos grandes T e os antígenos pequenos t, proteínas que promovem a multiplicação celular. A replicação viral requer a maquinaria de transcrição e de replicação de DNA fornecida pela célula em crescimento (em divisão). Os antígenos T do

BKV, do JCV e do SV40 apresentam diversas funções. Por exemplo, o antígeno T do SV40 liga-se ao DNA e controla a transcrição dos genes precoces e tardios, bem como a replicação do DNA viral. Além disso, o antígeno T se liga a e inativa as duas principais proteínas supressoras da multiplicação celular (divisão celular), p53 e p105RB, promovendo a multiplicação celular.

Semelhante à replicação dos HPVs, a replicação dos poliomavírus é altamente dependente de fatores das células hospedeiras. Células permissivas permitem a transcrição do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) viral tardio e a replicação viral, o que resulta em morte celular. O vírus estabelece latência em células não permissivas (replicação bloqueada por fatores imunitários). Algumas células animais permitem que apenas os genes precoces, incluindo o antígeno T, sejam expressos, promovendo a multiplicação celular e, potencialmente, acarretando transformação oncogênica da célula.

O genoma dos poliomavírus é usado muito eficientemente. A região não codificadora do genoma contém os pontos de iniciação para os RNAm precoces e tardios e a origem da replicação do DNA. As três proteínas tardias são produzidas a partir dos RNAms, que têm o mesmo local de iniciação e, em seguida, são processadas em três RNAms únicos.

O DNA viral circular é mantido e replicado bidirecionalmente, da mesma forma que um plasmídio bacteriano é mantido e replicado. A replicação do DNA precede a transcrição do RNAm tardio e a síntese de proteínas. O vírus é montado no núcleo, sendo liberado por lise celular.

Patogênese

Cada poliomavírus é limitado a hospedeiros específicos e a certos tipos celulares dentro desse hospedeiro. Por exemplo, o JCv e o BKV são os vírus humanos que provavelmente entram pelo trato respiratório ou pelas amígdalas, após infectar os linfócitos e, em seguida, os rins, com um mínimo efeito citopatológico. O BKV estabelece infecção latente nos rins, e o JCV estabelece a infecção nos rins, nas células B, nas células da linhagem dos monócitos e em outras células. A replicação é bloqueada em indivíduos imunocompetentes.

Em pacientes de células T, como aqueles com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), a reativação do vírus nos rins leva à excreção viral na urina e a infecções do trato urinário potencialmente graves (BKV) ou viremia e infecção do sistema nervoso central (JCV) (Fig. 41-9). O JCV atravessa a barreira hematoencefálica por se replicar nas células endoteliais dos capilares. Infecção abortiva de astrócitos resulta em transformação parcial, produzindo células aumentadas com núcleos anormais semelhantes a glioblastomas. Infecções líticas produtivas de oligodendrócitos causam desmielinização (Quadro 41-3). Embora o SV40, o BKV e o JCV possam causar tumores em *hamsters*, esses vírus não estão associados a nenhum tumor humano. Integração e inativação de uma função do antígeno T do poliomavírus das células de Merkel permite a esse vírus converter as células de Merkel em um tumor.

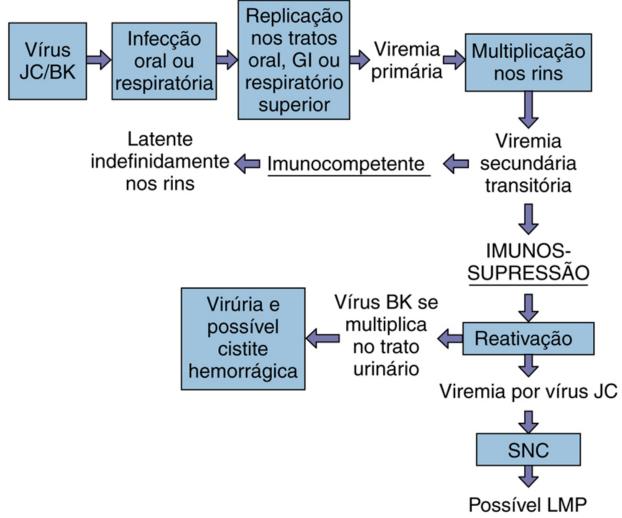


FIGURA 41-9 Mecanismos de disseminação do poliomavírus dentro do organismo. *SNC*, sistema nervoso central; *GI*, gastrointestinal; *LMP*, leucoencefalopatia multifocal progressiva.

Epidemiologia

As infecções por poliomavírus são ubíquas, e a maioria das pessoas está infectada com ambos, JCV e BKV, aos 15 anos (Quadro 41-3). Os vírus são disseminados na urina, nas fezes e, potencialmente, em aerossóis. Infecções latentes podem ser reativadas em pessoas cujo sistema imunológico é suprimido por causa da AIDS, transplante de órgãos ou gravidez. Aproximadamente 10% das pessoas com AIDS desenvolvem LMP, que é uma doença fatal em cerca de 90% dos casos. A incidência diminuiu com o sucesso da terapia antirretroviral altamente ativa (HAART, highly active antiretroviral therapy).

Os primeiros lotes da vacina atenuada contra a pólio foram contaminados com SV40, que não foi detectado nas culturas celulares primárias de macacos utilizadas para preparar a vacina. Embora muitas pessoas tenham sido vacinadas com as vacinas contaminadas, não foram relatados tumores relacionados ao SV40.

Síndromes Clínicas (Quadro 41-5)

A infecção primária é quase sempre assintomática. O BKV e o JCV são ativados em pacientes imunocomprometidos, conforme indicado pela presença dos vírus na urina em até 40% desses pacientes. Os vírus também são reativados durante a gestação, mas não foram notados efeitos sobre o feto. Durante a gravidez, a imunidade mediada por células, incluindo as atividades que restringem a replicação do poliomavírus, são suprimidas para que o feto (um enxerto de tecido) não seja rejeitado.



Quadro 41-5 Resumos Clínicos

Verruga: Um paciente de 22 anos desenvolve uma área escamosa arredondada, cônica e endurecida (pápula), de coloração acastanhada, sobre o dedo indicador. Ela apresenta uma superfície áspera e não é dolorosa. O paciente não apresenta outras patologias ou queixas. A verruga foi tratada topicamente com ácido salicílico diário para destruir as células que continham o vírus e remover a verruga.

Papiloma cervical: No exame cervical foi observada uma grande pápula, que se tornava branca com a aplicação de ácido acético a 4%. O exame de Papanicolaou desta mulher de 25 anos, sexualmente ativa, apresentou células coilocitóticas

Carcinoma cervical: Uma mulher de 32 anos apresenta-se para seu exame preventivo de Papanicolaou de rotina, que demonstra evidências de células anormais. Uma biópsia demonstra carcinoma de células escamosas. A análise por PCR do DNA celular resulta em DNA de HPV-16.

Leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP): Um paciente de 42 anos, portador de AIDS, apresenta déficits de memória e dificuldade para falar, enxergar e manter o equilíbrio, o que é sugestivo de lesões em muitos pontos cerebrais. A condição progride para paralisia e morte. A autópsia demonstra focos de desmielinização com oligodendrócitos contendo corpos de inclusão somente na substância branca.

Uma mulher de 37 anos com esclerose múltipla foi tratada com natalizumabe e interferon- β e desenvolveu LMP.

AIDS, síndrome da imunodeficiência adquirida; Pap, Papanicolaou; PCR, reação em cadeia da polimerase.

A estenose ureteral observada em receptores de transplante renal parece estar relacionada ao BKV, assim como a cistite hemorrágica observada em receptores de transplante de medula óssea. A LMP causada pelo JCV é uma doença subaguda desmielinizante que ocorre em pacientes imunocomprometidos, incluindo aqueles com AIDS (Caso Clínico 41-1). A imunoterapia que inibe a proteína de adesão α4-integrina (natalizumabe) também aumenta o risco de LMP. Apesar de rara, a incidência de LMP tem crescido devido ao aumento do número de pessoas com AIDS e terapia imunossupressora. Como o nome indica, os pacientes podem ter sintomas neurológicos múltiplos não atribuíveis a uma única lesão anatômica. Fala, visão, coordenação, atividade mental ou uma combinação dessas funções são prejudicadas, seguidas pela paralisia dos membros superiores e inferiores e, finalmente, pela morte. As pessoas diagnosticadas com LMP vivem em média 1 a 4 meses, e a maioria morre dentro de dois anos.



Caso Clínico 41-1 Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LMP)

Liptai e colaboradores (*Neuropediatrics* 38:32-35, 2007) descreveram um caso em que um menino de 15 anos e meio, infectado pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), apresentou fadiga e depressão. Os sintomas incluíam tontura, visão dupla, perda de coordenação motora para escrever e usar o computador e marcha instável. Ele havia adquirido o HIV através de uma agulha de seringa contaminada, quando era criança, em um hospital da Transilvânia. Com o passar dos anos, sua contagem de células T CD4 diminuiu lentamente e o genoma do HIV aumentou, muito provavelmente em razão de baixa adesão à terapia anti-HIV e não uso de uma terapia altamente ativa. Por meio de uma imagem de ressonância magnética foi detectada lesão cerebelar de 30 mm no hemisfério direito. Com base na detecção das sequências gênicas do vírus JC no líquido cefalorraquidiano por PCR, foi diagnosticada a LMP. Em 10 dias o menino perdeu a capacidade de caminhar e desenvolveu paralisia facial e hipoglossal com deterioração neurológica, incluindo depressão grave e perda da habilidade de comunicação. Ele morreu quatro meses após o início dos primeiros sintomas. A análise microscópica do cerebelo e do tronco cerebral indicou áreas de desmielinização e necrose, astrocitose e oligodendrócitos com corpos de inclusão nuclear. Embora a infecção pelo vírus JC seja ubiquitária e normalmente benigna, esse vírus causa LMP em indivíduos imunocomprometidos. Anteriormente rara, a LMP tornou-se muito prevalente em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida que não aderem ou não estão em tratamento anti-HIV, ou para os quais a terapia anti-HIV é ineficaz.

O genoma de um novo poliomavírus, o poliomavírus de células de Merkel (MCV ou MCPyV), foi recentemente descoberto, integrado na cromatina dos carcinomas da célula de Merkel, um tipo de câncer de pele muito agressivo. Este é o primeiro exemplo de um poliomavírus associado a um câncer humano.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da LMP é confirmado pela presença de DNA viral amplificado por PCR no líquido cefalorraquidiano ou pela evidência das lesões em ressonância magnética ou tomografia computadorizada. O exame histológico do tecido cerebral obtido por biópsia ou autópsia mostrará focos de desmielinização rodeados por oligodendrócitos com inclusões adjacentes às áreas de desmielinização. O termo *leucoencefalopatia* refere-se à presença de lesões apenas na substância branca. Há pouca ou nenhuma resposta inflamatória celular. Immunofluorescência *in situ*, imunoperoxidase, análise por sonda de DNA e análise por PCR de líquido cefalorraquidiano, urina ou material de biópsia em busca das sequências genéticas particulares podem também ser utilizadas para detectar vírus. Exames citológicos da urina podem revelar a presença de infecção por JCV ou BKV, mostrando a existência de células aumentadas com inclusões intranucleares basofílicas densas que se assemelham àquelas induzidas por citomegalovírus. É difícil isolar o BKV e o JCV em culturas de tecidos; portanto, este procedimento não é utilizado.

Tratamento, Prevenção e Controle

Assim como para o papilomavírus, o cidofovir pode ser usado para tratar infecções por poliomavírus. A redução da imunossupressão responsável pela reativação do poliomavírus também pode ser útil. A natureza universal dos

poliomavírus e a falta de entendimento sobre o seu modo de transmissão tornam pouco provável que a infecção primária possa ser prevenida.

Referências Bibliográficas

Arthur RR, Shah KV, Baust SJ, et al. Association of BK viruria with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants. *N Engl J Med.* 1986;315:230–234.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Chow LT, Broker TR. Human papillomavirus infections: warts or cancer?. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2013;5(7):a012997.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 3 Oxford: Oxford University Press; 2006.

de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, et al. Classification of papillomaviruses. Virology. 2004;324:17-24.

Feng H, Shuda M, Chang Y, et al. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. Science. 2008;319:1096–1100.

Ferenczy A, Franco EL. Prophylactic human papillomavirus vaccines: potential for sea change. Expert Rev Vaccines. 2007;6:511-525.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses*. ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Franco EL, Harper DM. Vaccination against human papillomavirus infection: a new paradigm in cervical cancer control. *Vaccine*. 2005;23:2388–2394.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious diseases. ed 3 Philadelphia: WB Saunders; 2004.

Howley PM. Role of the human papillomaviruses in human cancer. Cancer Res. 1991;51(Suppl 18):5019S-5022S.

Hseuh C, Reyes CV. Progressive multifocal leukoencephalopathy. Am Fam Physician. 1988;37:129–132.

Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Fields virology. ed 5 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Major EO. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients on immunomodulatory therapies. Annu Rev Med. 2010;61:35-47.

Major EO, Amemiya K, Tornatore CS, et al. Pathogenesis and molecular biology of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5:49–73.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. ed 6 Philadelphia: Churchill Livingstone; 2005.

Miller DM, Brodell RT. Human papillomavirus infection: treatment options for warts. Am Fam Physician. 1996;53:135–143.

Morrison EA. Natural history of cervical infection with human papillomavirus. Clin Infect Dis. 1994;18:172-180.

Raff AB, Woodham AW, Raff LM, et al. The evolving field of human papillomavirus receptor research: a review of binding and entry. *J Virol*. 2013;87(11):6062–6072.

Siddiqui MA, Perry CM. Human papillomavirus quadrivalent (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine (Gardasil). *Drugs*. 2006;66:1263–1271.

Spence AR, Franco EL, Fetenczy A. The role of human papillomaviruses in cancer. Am J Cancer. 2005;4:49-64.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

White DO, Fenner FJ. Medical virology. ed 4 New York: Academic; 1994.

Woodman CBJ, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. Nat Rev Cancer. 2007;7:11–22.

Zhi-Ming Zheng Z-M, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci.* 2006;11:2286–2302.

zür Hausen H. Viruses in human cancers. Science. 1991;254:1167-1173.

Websites

National Cancer Institute: Pap test results. www.cancer.gov/cancertopics/understanding-cervical-changes/test-results. Acessado em 10 de Junho de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Human papillomavirus (HPV). www.cdc.gov/std/HPV/. Acessado em 10 de Junho de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Human papillomavirus (HPV). www.cdc.gov/hpv/. Acessado em 10 de Junho de 2015.

Gearhart PA, Randall TC, Buckley RM, et al: Human papillomavirus. http://emedicine.medscape.com/article/219110-overview. Acessado em 10 de Junho de 2015.

Merck: Gardasil. www.gardasil.com/. Acessado em 10 de Junho de 2015.

Merck: Gardasil 9. www.gardasil9.com/. Acessado em 10 de Junho de 2015.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases: Human papillomavirus (HPV) and genital warts. www.niaid.nih.gov/topics/genitalwarts/pages/default.aspx. Acessado em 10 de Junho de 2015.

CAPÍTULO 42

Adenovírus

Um recruta do exército de 19 anos queixou-se de que estava com febre alta, calafrios, tosse, coriza e dor de garganta. Vários outros membros da unidade reclamaram de sintomas parecidos.

- 1. Como o adenovírus é transmitido?
- 2. Quais os tipos de adenovírus mais propensos a causar a síndrome da angústia respiratória aguda?
- 3. Quais são as outras doenças que o adenovírus pode causar?
- 4. Qual o tipo de resposta imune que protege contra a infecção?
- 5. Por que os militares desenvolveram uma vacina atenuada para as cepas 4 e 7 do adenovírus?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Adenovírus

Palavras-gatilho

Faringite, conjuntivite, pneumonia atípica, capsídeo icosadeltaédrico

Biologia, Virulência e Doença

- Capsídeo icosadeltaédrico de tamanho médio com fibras, genoma de DNA linear com proteínas terminais
- As proteínas E1A e E1B inativam E6 e E7 para promover o crescimento
- Vírus codifica a polimerase
- Capsídeo do vírus resistente à inativação
- Vírus lítico
- · Causa faringite, conjuntivite, pneumonia atípica, gastroenterite infantil, doença respiratória aguda
- Pode ser utilizado como vetor para a produção de vacinas

Epidemiologia

• Transmitido por aerossóis, contato direto, fecal-oral, piscinas de natação contaminadas

Diagnóstico

• Ensaios imunológicos e análise do genoma por PCR

Tratamento, Prevenção e Controle

Vacina de adenovírus tipos 4 e 7 só para militares

Os adenovírus foram isolados pela primeira vez em 1953 em uma cultura de células adenoides humanas. Desde então, aproximadamente 100 sorotipos foram reconhecidos, dos quais pelo menos 52 infectam humanos. Todos os sorotipos humanos estão incluídos em um único gênero dentro da família Adenoviridae. Existem sete subgrupos para os adenovírus humanos (de A a G) (Tabela 42-1). Os vírus em cada subgrupo compartilham muitas propriedades.



Doenças Associadas a Adenovírus

Doença	Tipos	População de Pacientes		
Doenças Respiratórias				
Febre, infecção indiferenciada do trato respiratório superior	1, 3, 5, 7, 14, 21 etc.	Lactentes, crianças pequenas		
Febre faringoconjuntival	1, 2, 3, 4, 5, 7	Crianças, adultos		
Doença respiratória aguda	1, 2, 4, 5, 6, 7, 14, 21	Lactentes, crianças pequenas, recrutas militares		
Síndrome semelhante à coqueluche	5	Lactentes, crianças pequenas		
Pneumonia	3, 4, 7, 14, 21, 30	Lactentes, crianças pequenas, recrutas militares, pacientes imunocomprometidos		
Outras Doenças				
Cistite hemorrágica aguda/nefrite	11, 21	Crianças, pacientes imunocomprometidos		
Ceratoconjuntivite epidêmica	8, 9, 11, 19, 35, 37	Qualquer idade		
Gastroenterite	40, 41	Lactentes, crianças pequenas, pacientes imunocomprometidos		
Hepatite	1-5, 7, 31	Pacientes imunocomprometidos		
Meningoencefalite	2,7	Crianças, pacientes imunocomprometidos		

Os primeiros adenovírus humanos identificados, numerados de 1 a 7, são os mais comuns. Os distúrbios comuns causados pelos adenovírus incluem **infecção do trato respiratório**, **faringoconjuntivite (olho vermelho)**, **cistite hemorrágica e gastroenterite**. Vários adenovírus apresentam um potencial oncogênico em animais, mas não em humanos, e por esse motivo foram extensivamente estudados por biologistas moleculares. Esses estudos elucidaram muitos processos virais e de células eucarióticas. Por exemplo, a análise do gene para proteína do hexâmero do adenovírus resultou na descoberta dos íntrons e do processamento (*splicing*) do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) eucariótico. O adenovírus está também sendo utilizado em terapias genéticas para liberar o ácido desoxirribonucleico (DNA) para a substituição de genes e terapia de modificação (p. ex., fibrose cística), para expressar genes para outros vírus (p. ex., vírus da imunodeficiência humana [HIV]) como uma vacina, e como terapia oncolítica.

Estrutura e Replicação

Os adenovírus são vírus de DNA de dupla-fita com um genoma de aproximadamente 36.000 pares de bases, suficientemente grandes para codificar 30 a 40 genes. O genoma do adenovírus consiste em um **DNA linear de dupla fita**, com uma **proteína terminal** (massa molecular, 55 kDa) ligada covalentemente em cada extremidade 5′. Os vírions têm uma estrutura singular. O **capsídeo icosadeltaédrico não envelopado** compreende 240 capsômeros, que consistem em hexâmeros e pentâmeros e têm um diâmetro de 70 a 90 nm (Fig. 42-1 e Quadro 42-1). Os 12 pentâmeros, que estão localizados em cada um dos vértices, possuem uma base pentamérica e uma fibra. A **fibra** contém as **proteínas de fixação viral**. A base pentamérica e a fibra são tóxicas para as células. Os pentâmeros e as fibras também são portadores de antígenos específicos para cada tipo de adenovírus.



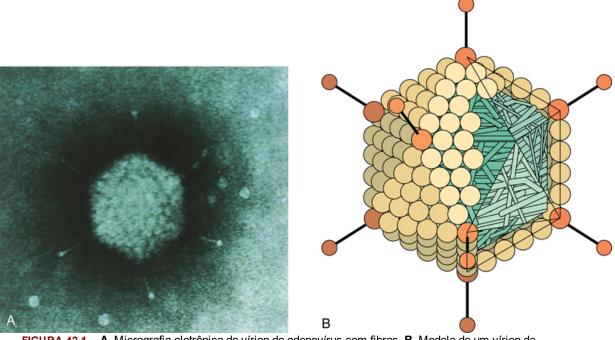


FIGURA 42-1 A, Micrografia eletrônica do vírion do adenovírus com fibras. B, Modelo de um vírion de adenovírus com fibras. (A, De Valentine RC, Pereira HG: Antigens and structure of the adenovirus, *J Mol Biol* 13:13-20, 1965. B, De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: *Infectious diseases*, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)



Quadro 42-1 Características Específicas dos Adenovírus

- O capsídeo icosadeltaédrico não envelopado apresenta fibras (proteínas de fixação viral) nos vértices.
- O genoma de dupla-fita linear possui proteínas terminais 5'.
- A síntese da DNA polimerase viral ativa a mudança de expressão de genes precoces para tardios.
- O vírus codifica a sua própria **DNA polimerase** e outras proteínas para facilitar o crescimento e escapar ao sistema imunológico.
- Os adenovírus humanos são agrupados de A a G por homologias de DNA e por sorotipos (> 55 tipos humanos)
- O sorotipo é o resultado principalmente de diferenças nas proteínas da base pentamérica e da fibra, que determinam a natureza do tropismo tecidual e a doença.
- O vírus causa infecções **líticas, persistentes** e **latentes** em humanos, e algumas cepas podem **imortalizar determinadas células animais.**

O complexo central (*core complex*) no capsídeo inclui o DNA viral e pelo menos duas proteínas maiores. Existem pelo menos 11 proteínas no vírion do adenovírus, das quais nove têm função estrutural identificada (Tabela 42-2).



Principais Proteínas do Adenovírus

Gene	Número	Massa Molecular (kDa)	Funções das Proteínas
E1A*			Ativa a transcrição do gene viral Liga-se ao supressor do crescimento celular (p105RB), promovendo a transformação Desregula o crescimento celular Inibe a ativação de elementos de resposta do interferon
E1B			Liga-se ao supressor de crescimento celular (p53), promovendo o crescimento celular e a transformação Bloqueia a apoptose
E2			Ativa alguns promotores Proteína terminal no DNA DNA polimerase
E3			Impede a ação do TFN-α; expressão de MHC I
E4			Limita o efeito citopatológico viral
VA RNAs			Inibem a resposta de interferon
Capsídeo	II	120	Contém um antígeno da família e alguns antígenos utilizados para sorotipagem
	III	85	Proteína de base pentamérica Tóxica para células em cultura celular
	IV	62	Fibra Responsável pela fixação; contém alguns antígenos utilizados para sorotipagem
	VI	24	Proteínas associadas com hexâmero
	VIII	13	Proteínas associadas com pentâmero
	IX	12	"Cimento de capsídeo" não essencial
	Illa	66	"Facilita a montagem"
Core (região	V	48	Proteína nuclear 1: proteína de ligação ao DNA
central)	VII	18	Proteína nuclear 2: proteína de ligação ao DNA

E, precoce (do inglês, *early*); *MHC I*, complexo principal de histocompatibilidade I; *RB*, produto do gene do retinoblastoma; *TNF-α*, fator de necrose tumoral-α; *VA*, associado com vírus.

A replicação viral demora cerca de 32-36 horas e produz aproximadamente 10.000 vírions. A ligação das proteínas da fibra viral com uma glicoproteína pertencente à superfamília das imunoglobulinas (≈ 100.000 receptores de fibra estão presentes em cada célula) inicia a infecção para a maioria dos adenovírus. O mesmo receptor é usado por muitos vírus coxsackie B, o que resultou na denominação de **receptor de adenovírus coxsackie**. Alguns adenovírus utilizam a molécula do complexo principal de histocompatibilidade de classe I (MHC I, do inglês, class I major histocompatibility complex) como receptor. A internalização é iniciada pela interação da base pentamérica com uma integrina α_v seguida por endocitose mediada pelo receptor em uma vesícula revestida por clatrina. O vírus lisa a vesícula endossômica e o capsídeo fornece o genoma do DNA para o núcleo. O pentâmero e as proteínas da fibra do capsídeo são tóxicos para as células e podem inibir a síntese celular de macromoléculas.

Um mapa do genoma do adenovírus mostra as localizações dos genes virais (Fig. 42-2). Os genes são transcritos a partir de ambas as cadeias de DNA e em ambas as direções, em momentos diferentes durante o ciclo de replicação. Os genes para funções relacionadas estão agrupados. A maior parte do RNA transcrito a partir do genoma de adenovírus é processado em vários RNAms individuais no núcleo. O adenovírus codifica a sua própria DNA polimerase e proteínas que promovem o crescimento celular e suprimem a apoptose e a resposta imune e inflamatória do hospedeiro.

^{*} Os genes precoces codificam vários RNAs mensageiros e proteínas por padrões alternativos de processamento (*splicing*).

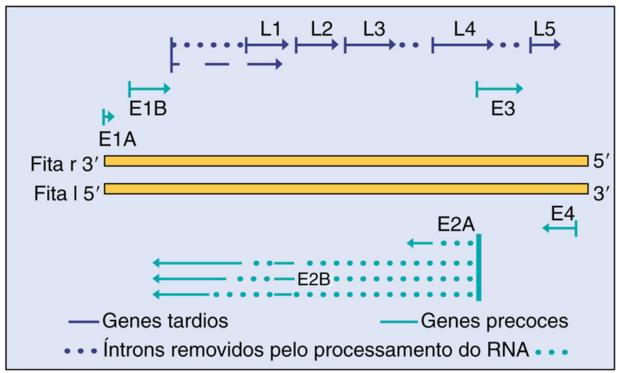


FIGURA 42-2 Mapa genômico simplificado do adenovírus tipo 2. Os genes são transcritos a partir das duas fitas (*I* e *r*) em direções opostas. Os genes precoces são transcritos a partir de quatro sequências promotoras, e cada uma gerará vários RNAs mensageiros por processamento da transcrição do RNA primário. Isso produz todo o repertório de proteínas virais. Apenas o *splicing* para o transcrito de E2 é mostrado como exemplo. Todos os genes tardios são transcritos a partir de uma sequência promotora. *E*, Proteína precoce; *L*, Proteína tardia. (Modificada de Jawetz E, Adelberg EA, Melnick JL: *Review of medical microbiology*, ed 17, Norwalk, Conn, 1987, Appleton & Lange.)

A transcrição do RNAm ocorre em duas fases. As proteínas iniciais promovem o crescimento celular e incluem uma DNA polimerase que está envolvida na replicação do genoma. Como ocorre com os papovavírus, vários RNAms de adenovírus são transcritos a partir do mesmo promotor e compartilham as sequências iniciais, mas são produzidos pela retirada, durante o processamento (*splicing*), de diferentes íntrons. A transcrição do gene precoce *E1*, o processamento do transcrito primário (retirada de íntrons para produzir três RNAms) e a tradução da proteína precoce imediata **transativador E1A** são necessários para a transcrição das proteínas precoces. As proteínas precoces incluem mais proteínas de ligação a DNA, DNA polimerase e proteínas para ajudar o vírus a escapar da resposta imunológica. A proteína **E1A** também é um oncogene e, juntamente com a proteína **E1B**, pode estimular a multiplicação celular pela ligação às proteínas supressoras de crescimento celular **p105RB** (produto do gene retinoblastoma *p105RB*) (E1A) e **p53** (E1B). Em células permissivas, a estimulação da divisão celular facilita a transcrição e a replicação do genoma, com morte celular resultante da replicação viral. Em células não permissivas, o vírus estabelece latência e o genoma permanece no núcleo. Em células de roedores, não humanas, as proteínas E1A e E1B podem promover o crescimento celular, mas sem morte celular, e, portanto, o vírus transforma oncogenicamente as células.

A replicação do DNA viral ocorre no núcleo e é mediada pela **DNA polimerase codificada pelo vírus**. A polimerase utiliza a proteína viral de 55 kDa (proteína terminal) ligada a um monofosfato de citosina como *primer* para replicação das duas fitas do DNA. A proteína terminal permanece ligada ao DNA.

A transcrição genética tardia começa após a replicação do DNA. A maioria dos RNAms tardios individuais é gerada a partir de um grande transcrito primário (83% do genoma), que é, em seguida, processado em RNAms individuais.

As proteínas do capsídeo são produzidas no citoplasma e então transportadas até o núcleo para a montagem viral. Os pró-capsídeos vazios são montados primeiro e, então, o DNA viral e as proteínas centrais entram no capsídeo por uma abertura em um dos vértices. A replicação e o processo de montagem são ineficientes e propensos a erros, produzindo tão poucas unidades infecciosas como cerca de uma unidade a cada 2.300 partículas. DNA, proteína e numerosas partículas defeituosas se acumulam em corpúsculos de inclusão nuclear. O vírus permanece na célula e é liberado quando esta se degenera e é lisada.

Patogênese e Imunidade

Os adenovírus são capazes de causar infecções **líticas** (p. ex., células mucoepiteliais), **latentes** (p. ex., células linfoides e adenoides) e **transformadoras** (em *hamsters*, não em humanos). Inicialmente esses vírus infectam o revestimento das células epiteliais da orofaringe, assim como órgãos respiratórios e entéricos (Quadro 42-2). As proteínas da fibra viral determinam a especificidade para as células-alvo. A atividade tóxica da proteína da base pentamérica pode resultar em inibição do transporte celular de RNAm e síntese de proteínas, arredondamento da célula e lesão tecidual.



Quadro 42-2 Mecanismos Patológicos dos Adenovírus

- O vírus é transmitido em **aerossóis**, **na matéria fecal** e por **contato íntimo**. Disseminação do vírus para os olhos pode-se dar por meio dos dedos.
- O vírus infecta as **células mucoepiteliais** de trato respiratório, do trato gastrointestinal e da conjuntiva ou córnea, causando lesão celular direta.
- A doença é determinada pelo tropismo tecidual do grupo ou sorotipo específico da cepa viral.
- O vírus persiste no tecido linfoide (p. ex., amígdalas, adenoides, placas de Peyer).
- Os **anticorpos** são importantes para profilaxia e resolução da infecção, mas a imunidade mediada por células também é importante.

A marca histológica da infecção por adenovírus é uma inclusão intranuclear densa e central (que consiste em DNA viral e proteína) dentro de uma célula epitelial infectada (Fig. 42-3). Essas inclusões podem lembrar aquelas observadas em células infectadas por citomegalovírus, porém o adenovírus não causa aumento celular (citomegalia). Infiltrados de células mononucleares e necrose de células epiteliais são observados no local de infecção.

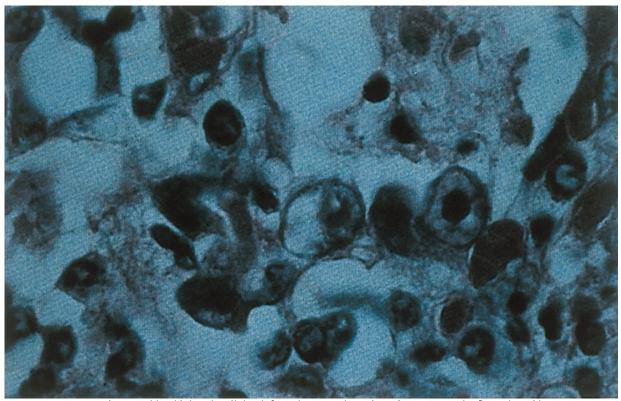


FIGURA 42-3 Aspecto histológico de células infectadas por adenovírus. A montagem ineficaz dos vírions produz corpos de inclusão nuclear basófilos escuros, contendo DNA, proteínas e capsídeos.

Viremia pode ocorrer após a replicação local do vírus, com subsequente disseminação para os órgãos viscerais (Fig. 42-4). Essa disseminação tem maior probabilidade de ocorrer em pacientes imunocomprometidos que em imunocompetentes. O vírus é propenso a se tornar **latente e persistir** em tecidos linfoides e de outros tipos, como adenoides, amígdalas e placas de Peyer, e pode ser reativado em pacientes imunossuprimidos. Embora alguns adenovírus (grupos A e B) sejam **oncogênicos em alguns roedores**, a transformação de células humanas por adenovírus não foi observada.

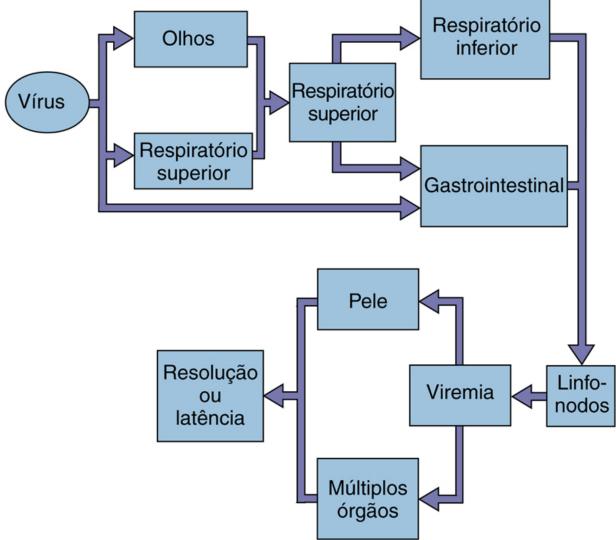


FIGURA 42-4 Mecanismo da disseminação do adenovírus no organismo.

Os anticorpos são importantes para resolução de infecções líticas por adenovírus e protegem a pessoa da reinfecção pelo mesmo sorotipo, mas não por outro sorotipo. Os anticorpos neutralizadores são dirigidos para as proteínas da fibra. A imunidade mediada por célula é importante para limitar o crescimento do vírus e para proteger pessoas imunossuprimidas contra doenças mais sérias e recorrentes. Os adenovírus possuem vários mecanismos para escapar das defesas do hospedeiro e ajudá-los a persistir no hospedeiro. Eles codificam pequenos RNAs associados a vírus (VA RNAs) que impedem a ativação da inibição da síntese de proteína viral mediada pela proteína quinase R induzida por interferon. As proteínas E3 e E1A virais bloqueiam a apoptose induzida por respostas celulares ao vírus, por ações de células T ou citocina (p. ex., fator de necrose tumoral [TNF]-α). Algumas cepas de adenovírus podem inibir a ação de células T CD8+ citotóxicas, prevenindo a expressão adequada das moléculas do MHC I e, consequentemente, a apresentação do antígeno.

Epidemiologia

Os vírions do adenovírus resistem a ressecamento, detergentes, secreções do trato gastrointestinal (ácido, protease e bile) e mesmo ao tratamento brando com cloro (Quadro 42-3). Portanto, esses vírions são disseminados em aerossóis e pela via fecal-oral, pelos dedos, por fômites (incluindo toalhas e instrumentos médicos) e em lagoas ou piscinas inadequadamente cloradas. Multidões e locais de grande proximidade, como ocorre nas salas de aula e nos quartéis militares, promovem a disseminação dos vírus. Os adenovírus podem ser liberados intermitentemente e por longos períodos pela faringe, e, em especial, nas fezes. A maioria das infecções é assintomática, uma característica que facilita imensamente sua disseminação na comunidade.



Quadro 42-3 Epidemiologia dos Adenovírus

Doença/Fatores Virais

O capsídeo do vírus é resistente à inativação pelo trato gastrointestinal, ressecamento e detergentes.

Os sintomas da doença podem parecer com os de outras infecções respiratórias virais.

O vírus pode ser excretado de forma assintomática.

Transmissão

Contato direto com gotículas respiratórias e fezes nas mãos e em fômites (p. ex., toalhas, instrumentos médicos contaminados) e piscinas inadequadamente cloradas e lagoas.

Quem Está sob Risco?

Crianças < 14 anos

Pessoas em locais de aglomeração (p. ex., creches, acampamentos para treinamento militar, clubes de natação)

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado no mundo todo.

Não existe incidência sazonal.

Modo de Controle

Uma vacina viva para os sorotipos 4 e 7 está disponível para uso militar.

Os adenovírus de 1 a 7 constituem os sorotipos mais prevalentes. De 5% a 10% dos casos de doença pediátrica do trato respiratório são causados pelos adenovírus de tipos 1, 2, 5 e 6, e as crianças infectadas liberam o vírus durante meses após a infecção. O adenovírus causa 15% dos casos de gastroenterite que exige hospitalização. Os sorotipos 4 e 7 parecem especialmente capazes de disseminação entre recrutas militares em razão de sua proximidade e estilo de vida rigoroso.

Síndromes Clínicas (Quadro 42-4)

Os adenovírus infectam primariamente crianças e menos comumente adultos. A doença decorrente do vírus reativado acontece em crianças e adultos imunocomprometidos. As síndromes clínicas específicas estão associadas a infecção por adenovírus específicos (Tabela 42-1). A evolução temporal da infecção respiratória por adenovírus é mostrada na Figura 42-5.

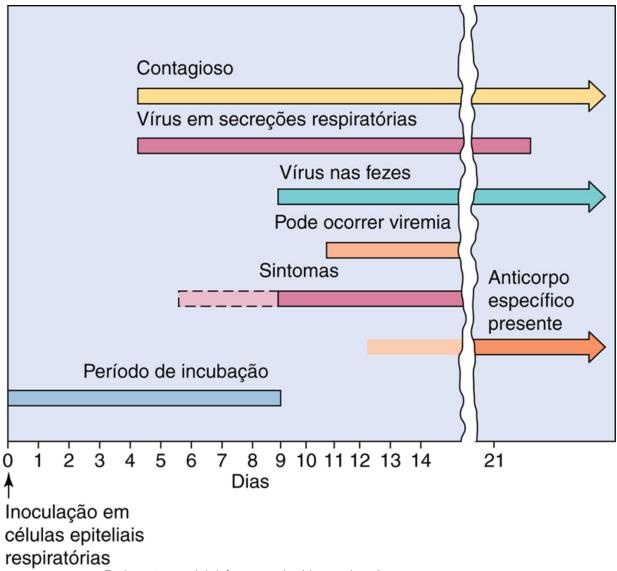


FIGURA 42-5 Evolução temporal da infecção respiratória por adenovírus.



Quadro 42-4 Resumos Clínicos

Febre faringoconjuntival: Um estudante de sete anos de idade desenvolve início súbito de olhos vermelhos, dor de garganta e febre de 38,9° C (102° F). Muitas crianças da mesma escola têm sintomas similares.

Gastroenterite: Um lactente apresenta diarreia e está vomitando. Adenovírus do sorotipo 41 é identificado na análise das fezes por reação em cadeia da polimerase para fins epidemiológicos.

Faringite Febril Aguda e Febre Faringoconjuntival

Os adenovírus causam faringite, que frequentemente é acompanhada por conjuntivite (febre faringoconjuntival). A faringite isoladamente ocorre em crianças novas, em particular abaixo dos 3 anos, e pode mimetizar infecção estreptocócica. Os pacientes afetados apresentam sintomas semelhantes aos da gripe (incluindo congestão nasal, tosse, coriza, mal-estar, febre, calafrios, mialgia e cefaleia), que podem durar de 3-5 dias. A febre faringoconjuntival ocorre, com mais frequência, em surtos envolvendo crianças mais velhas.

Doença Respiratória Aguda

Doença respiratória aguda é uma síndrome que consiste em febre, coriza, tosse, faringite e possível conjuntivite (Caso Clínico 42-1). A alta incidência de infecção em recrutas militares estimulou o desenvolvimento e o uso de uma vacina para esses sorotipos.



Caso Clínico 42-1 Adenovírus Patogênico 14

Os Centers for Disease Control and Prevention (MMWR Morb Mortal Wkly Rep 56:1181-1184, 2007) relataram que a análise de isolados de recrutas durante surto de infecção respiratória febril na base da Força Aérea de Lackland mostrou

que 63% dos casos foram decorrentes de adenovírus, 90% dos quais decorrentes do adenovírus 14. Dos 423 casos, 27 foram hospitalizados com pneumonia, cinco necessitaram de internação na UTI e um paciente morreu. Em um caso análogo relatado pela CNN (www.cnn.com/2007/HEALTH/conditions/12/19/killer.cold/index.html), um atleta da escola secundária de 18 anos queixou-se de sintomas semelhantes aos da gripe, com vômitos, calafrios e febre de 40°C, que progrediu para pneumonia com risco à vida em alguns dias. O adenovírus causador dessas infecções é um mutante do adenovírus 14 que foi identificado pela primeira vez em 1955. O mutante do adenovírus 14 se espalhou pelos Estados Unidos pondo adultos sob risco de doença grave. A infecção por adenovírus 14 geralmente causa uma infecção respiratória benigna em adultos, e somente recém-nascidos e idosos apresentam maior risco de evoluções para resultados mais graves. Embora a maioria das mutações virais produza vírus mais fracos, ocasionalmente um mutante mais virulento, capaz de escapar de anticorpos ou resistente às medicações antivirais, pode ocorrer.

Outras Doenças do Trato Respiratório

Os adenovírus causam sintomas semelhantes a um resfriado, laringite, crupe e bronquiolite. Também podem causar doença semelhante à coqueluche em crianças e adultos, que consiste em curso clínico prolongado e pneumonia viral verdadeira.

Conjuntivite e Ceratoconjuntivite Epidêmica

Os adenovírus causam conjuntivite folicular (olho vermelho), na qual a mucosa da conjuntiva palpebral torna-se granulosa ou nodular e as duas conjuntivas (palpebral e bulbar) ficam inflamadas (Fig. 42-6). Essa conjuntivite pode ocorrer esporadicamente ou em surtos que podem ser rastreados até uma fonte comum. A conjuntivite transmitida em piscinas é um exemplo familiar de infecção por adenovírus de fonte comum. A ceratoconjuntivite epidêmica pode constituir risco ocupacional para trabalhadores industriais. A mais notável dessas epidemias ocorreu em trabalhadores de estaleiros navais em Pearl Harbor no Havaí, onde causou mais de 10.000 casos durante 1941 e 1942. A irritação do olho por um corpo estranho, poeira, resíduos etc. constitui um fator de risco para a aquisição desta infecção.



FIGURA 42-6 Conjuntivite causada por adenovírus.

Gastroenterite e Diarreia

Os adenovírus são uma causa importante de gastroenterite viral aguda, principalmente em crianças. Os adenovírus entéricos (tipos 40 a 42) não se replicam nas mesmas células de cultura de tecidos como o fazem outros adenovírus e

raramente provocam febre ou sintomas do trato respiratório.

Outras Manifestações

Os adenovírus também foram associados a intussuscepção em crianças pequenas, cistite hemorrágica aguda com disúria e hematúria em meninos pequenos, distúrbios musculoesqueléticos e infecções genitais e cutâneas. O adenovírus (tipo 36) também está associado a obesidade.

Infecção Sistêmica em Pacientes Imunocomprometidos

Pacientes imunocomprometidos estão sob risco de infecções graves por adenovírus, embora não tanto quanto infecções causadas por herpes-vírus. A doença por adenovírus em pacientes imunocomprometidos inclui pneumonia e hepatite. A infecção pode ser originada de fontes exógenas ou endógenas (reativação).

Diagnóstico Laboratorial

Para que os resultados do isolamento viral sejam significativos, o isolado deve ser obtido de um local ou de uma secreção relevante para os sintomas da doença. A presença de adenovírus na garganta de um paciente com faringite geralmente é diagnosticada se os achados laboratoriais eliminarem outras causas comuns de faringite, como *Streptococcus pyogenes*.

A análise direta da amostra clínica sem o isolamento viral pode ser usada para detecção rápida e identificação dos adenovírus. Imunoensaios (p. ex., anticorpos fluorescentes, ensaio imunoabsorvente ligado a enzima) e ensaios genômicos (p. ex., diferentes variações da reação em cadeia da polimerase [PCR] e análise de sonda de DNA) podem ser usados para detectar, determinar o tipo e agrupar os vírus em amostras clínicas e culturas de tecidos. Essas abordagens devem ser usadas para adenovírus entéricos de sorotipos 40 a 42, que não crescem facilmente nas culturas de células disponíveis. Os testes sorológicos são raramente usados, exceto para fins epidemiológicos.

O isolamento da maioria dos tipos de adenovírus é mais bem realizado em culturas celulares derivadas de células epiteliais (p. ex., células de rim embrionário humano primárias, linhagens contínuas [transformadas] como HeLa e células de carcinoma epidérmico humano). Dentro de 2-20 dias, o vírus ocasiona infecção lítica com corpos de inclusão característicos e morte celular. Para o isolamento do vírus em cultura celular são necessários, em média, seis dias. As inclusões intranucleares características podem ser observadas no tecido infectado durante o exame histológico. Contudo, essas inclusões são raras e devem ser distinguidas daquelas produzidas pelo citomegalovírus.

Tratamento, Prevenção e Controle

A lavagem cuidadosa das mãos e a cloração de piscinas podem reduzir a transmissão do adenovírus. Não existe tratamento aprovado para a infecção por adenovírus, mas o cidofovir e a ribavirina têm sido utilizados para tratar indivíduos imunossuprimidos infectados por adenovírus. Vacinas orais vivas são usadas para prevenir infecções por adenovírus dos tipos 4 e 7 em recrutas, mas não são utilizadas na população civil.

Adenovírus Terapêuticos

Os adenovírus têm sido usados na transferência de material genético para correção de doenças humanas, incluindo imunodeficiências (p. ex., deficiência de adenosina desaminase), fibrose cística e doenças de armazenamento lisossômico. O vírus é inativado pela deleção ou mutação de *E1* e outros genes virais (p. ex., *E2*, *E4*). O gene apropriado é inserido no genoma viral, substituindo esses genes virais, e é controlado por um promotor apropriado. O vetor viral resultante deve ser cultivado em uma célula que expresse as funções virais ausentes (E1, E4) para complementar a deficiência e permitir a produção do vírus. Os tipos 4 e 7 e mutantes defeituosos de replicação dos tipos 5, 26 e 35 estão sendo desenvolvidos para carregar genes do HIV, do Ebola e de outros vírus como vacinas atenuadas para esses vírus mortais. Em uma das inovações mais recentes, os linfócitos T são infectados com um anticorpo ligado à membrana que codifica adenovírus para uma proteína de superfície do câncer (receptor do antígeno quimérico [CAR]) para permitir às células T reconhecer e atacar o câncer. O adenovírus no qual falta o gene *E1B* gera um vírus que cresce e mata seletivamente células tumorais que não possuem a proteína p53 promovendo terapia oncolítica. Apesar da atenuação pela engenharia genética, esses vírus ainda podem causar doenças graves em indivíduos imunocomprometidos.

Referências Bibliográficas

Balows A, Hausler WJ, Lennette EH. *Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice*. New York: Springer-Verlag; 1988. Benihoud K, Yeh P, Perricaudet M. Adenovirus vectors for gene delivery. *Curr Opin Biotechnol*. 1999;10:440–447.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 3 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 3 Oxford: Oxford University Press; 2006.

Doerfler W, Böhm P. Adenoviruses: model and vectors in virus-host interactions. Curr Top Microbiol Immunol. New York: Springer-Verlag; 2003.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Ginsberg HS. The adenoviruses. New York: Plenum; 1984.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious diseases. ed 3 Philadelphia: WB Saunders; 2004.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Kolavic-Gray SA, Binn LN, Sanchez JL, et al. Large epidemic of adenovirus type 4 infection among military trainees: epidemiological, clinical, and laboratory studies. *Clin Infect Dis.* 2002;35:808–818.

Lenaerts L, De Clercq E, Naesens L. Clinical features and treatment of adenovirus infections. Rev Med Virol. 2008;18:357–374.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. ed 7 Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010.

Robbins PD, Ghivizzani SC. Viral vectors for gene therapy. Pharmacol Ther. 1998;80:35-47.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Websites

National Cancer Institute: CAR T-cell therapy: engineering patients' immune cells to treat their cancers. www.cancer.gov/cancertopics/research-updates/2013/CAR-T-Cells. Acessado em 10 de junho de 2015.

Gompf SG, Kelkar D, Oehler R: Adenoviruses, 2014. http://emedicine.medscape.com/article/211738-overview. Acessado em 10 de junho de 2015.

CAPÍTULO 43

Herpes-vírus Humanos

- (a) Uma lesão vesicular torna-se evidente no canto da boca de um homem de 27 anos três dias após retornar de uma viagem para esquiar.
- (b) Um médico residente de pediatria de 26 anos desenvolve pneumonia grave; então, lesões vesiculares brotam em seções da cabeça, do tronco e em outros locais.
- (c) Diversas líderes de torcida de colégio apresentaram dor de garganta, febre, glândulas inchadas e fadiga. Elas compartilharam uma garrafa de água durante o jogo de futebol.
- (d) Um receptor de transplante de coração de 57 anos teve um surto de lesões do vírus do herpes simples, pneumonite por citomegalovírus e, subsequentemente, desenvolveu linfoma associado ao vírus Epstein-Barr. O linfoma apresentou remissão após a diminuição da terapia imunossupressiva.
 - 1. Quais vírus causaram essas doenças?
 - 2. Quais características são similares/diferentes para esses vírus?
 - 3. Como foi adquirida cada uma dessas infecções?
 - 4. Quais os fatores de risco para doenças herpéticas sérias?
 - 5. Quais das infecções podem ser prevenidas por vacinação ou tratamento com drogas antivirais?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Herpes-vírus

Palavras-gatilho

HSV 1 e 2: corpos de inclusão neurotrópicos de Cowdry tipo A, sincícios, vesícula, esfregaço de Tzanck

VZV: neurotrópico, (V) todas as fases das lesões, (Z) lesões ao longo de todo o dermátomo

EBV: célula B, mononucleose heterófila positiva, linfoma de Burkitt

CMV: corpo de inclusão de células gigantes ou em olho de coruja, oportunista, mononucleose, doença congênita

HHV-6: roséola

HHV-8: sarcoma de Kaposi, doença relacionada com AIDS

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho grande, com envelope, contendo capsídeo icosadeltaédrico, genoma de DNA
- Codifica a polimerase e outras proteínas (HSV e VZV: timidina cinase)
- Resposta imune mediada por células, essencial para o controle
- Vírus recorrentes, líticos, latentes; EBV e HHV-8 também associados a câncer
- HSV: oral/genital, encefalite, ceratoconjuntivite, HSV neonatal; recorrente a partir de neurônios
- VZV: pneumonia em adultos, varicela, zóster; recorrente a partir de neurônios
- EBV: mononucleose heterófilo-positiva, linfomas de células B; recorrente a partir de células B de memória
- CMV: doença oportunista, CMV congênita, retinite
- HHV-6: roséola
- HHV-8: sarcoma de Kaposi

Epidemiologia

- Vírus ubíquos
- Transmitidos por contato direto e fluidos corporais
- VZV transmitido por aerossóis e contato direto

Diagnóstico

• Testes de cultura, testes imunológicos (sorologia do EBV), análise do genoma por PCR

Tratamento, Prevenção e Controle

- Vacina para o VZV
- Fármacos antivirais para HSV, VZV e CMV

Os herpes-vírus são um importante grupo de grandes vírus envelopados de ácido desoxirribonucleico (DNA), com as seguintes características em comum: morfologia do vírion, modo básico de replicação e capacidade de estabelecer infecções latentes e recorrentes. A imunidade mediada por células é importante no desenvolvimento de sintomas e no controle das infecções por esses vírus. Os herpes-vírus codificam proteínas e enzimas que facilitam a replicação e a interação do vírus com o hospedeiro. O vírus Epstein-Barr (EBV) e o herpes-vírus humano 8 (HHV-8) estão associados a cânceres em humanos (Quadro 43-1).



Quadro 43-1 Características Específicas dos Herpes-vírus

Os herpes-vírus apresentam grandes capsídeos icosadeltaédricos, envelopados, contendo genomas de DNA de dupla fita.

Os herpes-vírus codificam muitas proteínas que manipulam a célula e a resposta imune do hospedeiro.

Os herpes-vírus codificam enzimas (DNA polimerase) que promovem a replicação do DNA viral e que são bons alvos para fármacos antivirais.

A replicação do DNA e a montagem do capsídeo ocorrem no núcleo.

O vírus é liberado por exocitose, lise celular e pontes célula a célula.

Os herpes-vírus podem causar infecções líticas, persistentes, latentes e (por vírus Epstein-Barr) imortalizantes.

Os herpes-vírus são ubíquos.

A imunidade mediada por células é requerida para o controle.

Os herpes-vírus humanos estão agrupados em três subfamílias, com base em diferenças nas características virais (estrutura do genoma, tropismo tecidual, efeito citopatológico e local de infecção latente), assim como na patogênese e nas manifestações da doença (Tabela 43-1). Os herpes-vírus humanos incluem os vírus do herpes simples dos tipos 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2), o vírus varicela-zóster (VZV), o vírus Epstein-Barr, o citomegalovírus (CMV), o herpes-vírus humanos 6 e 7 (HHV-6 e HHV-7), e, descoberto mais recentemente, o herpes-vírus humano 8 (HHV-8), associado ao sarcoma de Kaposi.



Tabela 43-1

Propriedades que Distinguem os Herpes-vírus

Subfamília	Vírus	Célula-alvo Primária	Local de Latência	Modos de Disseminação			
Alphaherpesvirinae							
HHV-1	Herpes simples tipo 1	Células mucoepiteliais	Neurônio	Contato próximo (DST)			
HHV-2	Herpes simples tipo 2	Células mucoepiteliais	Neurônio	Contato próximo (DST)			
HHV-3	Vírus varicela-zóster	Células mucoepiteliais e células T	Neurônio	Respiratório e contato próximo			
Gammaherpesvirinae							
HHV-4	Vírus Epstein-Barr	Células B e células epiteliais	Células B	Saliva (doença do beijo)			
HHV-8	Vírus relacionado com sarcoma de Kaposi	Linfócitos e outras células	Células B	Contato próximo (sexual), saliva?			
Betaherpe	esvirinae						
HHV-5	Citomegalovírus Monócitos, granulócitos, linfócitos e células epiteliais		Monócitos, células- tronco mieloides e ?	Contato próximo (DST), transfusões, transplante de tecidos e congênita			
HHV-6	Vírus linfotrópico herpético	Linfócitos e ? Célula T e ? Saliva		Saliva			
HHV-7	HHV-7	Como o HHV-6	Célula T e ?	Saliva			

HHV, Herpes-vírus humano; DST, doença sexualmente transmissível.

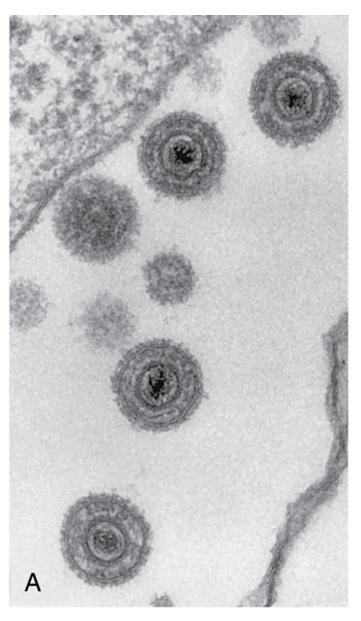
As infecções por herpes-vírus são comuns, e os vírus, com exceção do HHV-8, são **ubíquos**. Embora esses vírus geralmente causem doenças benignas, sobretudo em crianças, eles também podem causar morbidade e mortalidade

^{?,} Indica que outras células também podem ser o alvo primário ou o local de latência.

significativas, especialmente em indivíduos imunossuprimidos. Felizmente, alguns herpes-vírus codificam alvos para agentes antivirais e existe uma vacina de vírus vivo contra o VZV.

Estrutura dos Herpes-vírus

Os herpes-vírus são vírus **grandes** e **envelopados** que contêm **DNA de dupla fita.** O vírion tem aproximadamente 150 nm de diâmetro, com a morfologia característica apresentada na Figura 43-1. O DNA nuclear é envolvido por um **capsídeo icosadeltaédrico** contendo 162 capsômeros. Esse capsídeo é envolvido por um envelope contendo glicoproteínas. Os herpes-vírus codificam diversas glicoproteínas para adesão (adsorção) e fusão viral e para escapar do controle imunológico. Aderidas ao capsídeo e no espaço entre o envelope e o capsídeo (o **tegumento**) estão proteínas e enzimas virais que auxiliam o início da replicação. Como todos os vírus envelopados, os herpes-vírus são sensíveis a ácidos, solventes, detergentes e ressecamento.



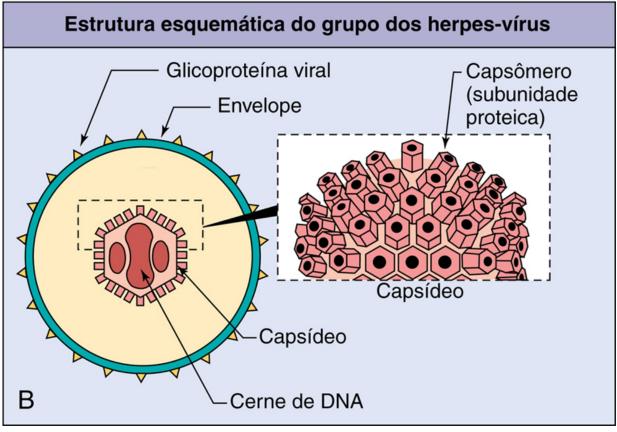


FIGURA 43-1 Imagem por microscopia eletrônica (A) e estrutura geral (B) dos herpes-vírus. O genoma do DNA dos herpes-vírus, no cerne, é cercado por um capsídeo icosadeltaédrico e um envelope. Glicoproteínas estão inseridas no envelope. (A, de Cohen J, Powderly WG, Opal SM: Infectious diseases, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)

Os genomas dos herpes-vírus são constituídos de DNA linear de dupla fita, mas diferem em tamanho e na orientação dos genes (Fig. 43-2). Sequências repetidas diretas ou invertidas demarcam regiões únicas do genoma (única longa $[U_L]$, única curta $[U_S]$), permitindo a circularização e recombinação dentro do genoma. A recombinação entre repetições invertidas de HSV, CMV e VZV permite que grandes porções do genoma mudem a orientação de seus segmentos genéticos U_L e U_S , um em relação ao outro, para formar genomas isométricos.

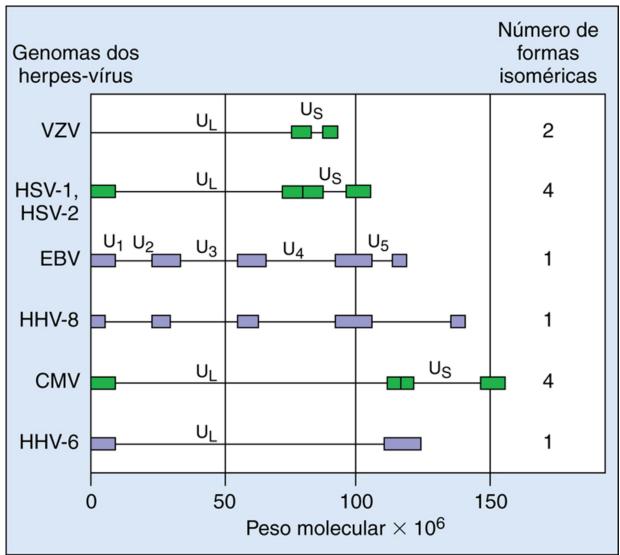


FIGURA 43-2 Genomas de herpes-vírus. Os genomas dos herpes-vírus são DNA de dupla fita. O comprimento e a complexidade do genoma diferem para cada vírus. Repetições invertidas em vírus do herpes simples (HSV), vírus varicela-zóster (VZV) e citomegalovírus (CMV) permitem que o genoma se recombine, formando isômeros. Grandes sequências de repetição genética estão representadas. Os genomas de HSV e CMV têm duas seções, a única longa (U_L) e a única curta (U_S), cada uma delimitada por duas séries de repetições invertidas de DNA. As repetições invertidas facilitam a replicação do genoma, mas também permitem que as regiões U_L e U_S se invertam independentemente uma da outra, formando quatro configurações genômicas, ou isômeros, diferentes. VZV apresenta apenas uma série de repetições invertidas e pode formar dois isômeros. O vírus Epstein-Barr (EBV) existe em apenas uma configuração, com várias regiões únicas delimitadas por repetições diretas. As DA0 sa DA1 sa DA1 sa DA2 se DA3 se DA3 se DA4 sa DA3 se DA4 sa DA5 se DA5 se invertidas nas sequências de DA6, herpes-vírus humano 6; DA6, herpes-vírus humano 8.

Replicação dos Herpes-vírus

A replicação dos herpes-vírus inicia-se pela interação de glicoproteínas virais com os receptores da superfície celular (Cap. 36, Fig. 36-11). O tropismo de alguns herpes-vírus (p. ex., EBV) é altamente restrito, em razão da expressão espécie-específica e tecido-específica de seus receptores. O vírus pode fusionar seu envelope com a membrana plasmática, liberando o nucleocapsídeo no citoplasma. Enzimas e fatores de transcrição são carreados para dentro da célula no tegumento do vírion. O nucleocapsídeo liga-se à membrana nuclear e o genoma é liberado no núcleo, onde será transcrito e replicado.

A transcrição do genoma e a síntese proteica viral procedem-se de maneira coordenada e regulada em três fases:

- 1. **Proteínas precoces imediatas (**α**)**, que consistem em proteínas importantes para a regulação da transcrição gênica e o controle da célula
- 2. **Proteínas precoces (β)**, que consistem em mais fatores de transcrição e enzimas, incluindo a DNA polimerase
- 3. **Proteínas tardias (γ),** que consistem principalmente em proteínas estruturais geradas após o início da replicação do genoma viral

O genoma viral é transcrito pela polimerase do ácido ribonucleico (RNA) DNA-dependente e é regulado pelos fatores nucleares celulares e codificados pelo vírus. A interação desses fatores determina se ocorre uma infecção lítica, persistente ou latente. As células que promovem uma infecção latente transcrevem um conjunto especial de genes virais sem replicação gênica. A progressão para a expressão de genes precoces e tardios resulta em morte celular e infecção lítica.

A DNA polimerase codificada pelo vírus, que é um alvo de fármacos antivirais, replica o genoma viral. As enzimas captadoras codificadas pelo vírus fornecem desoxirribonucleotídeos como substratos para a polimerase. Essas e outras enzimas virais facilitam a replicação do vírus em células que não se multiplicam e carecem de desoxirribonucleotídeos e enzimas suficientes para a síntese de DNA viral (p. ex., neurônios). Outras proteínas manipulam a maquinaria celular para aprimorar a replicação, inibir respostas imunológicas, inibir a apoptose ou estabelecer latência.

Os procapsídeos vazios juntam-se no núcleo, são preenchidas com DNA, deslocam-se para dentro e para fora do retículo endoplasmático, adquirem proteínas associadas ao tegumento e, em seguida, a um envelope na membrana de Golgi, e abandonam a célula por exocitose ou por lise da célula. Os processos de transcrição, síntese proteica, processamento de glicoproteína e de liberação exocítica a partir da célula são realizados pela maquinaria celular. Durante a replicação, os herpes-vírus rompem os processos celulares, degradam o DNA celular, incluindo o DNA mitocondrial, e alteram o citoesqueleto das células. A replicação do HSV é discutida com mais detalhes por este ser o protótipo dos herpes-vírus.

Vírus do Herpes Simples

O HSV foi o primeiro herpes-vírus humano a ser reconhecido. O nome *herpes* deriva de uma palavra grega que significa "rastejar". As lesões do herpes labial foram descritas na antiguidade, e sua etiologia viral foi estabelecida em 1919.

Os dois tipos de vírus do herpes simples, HSV-1 e HSV-2, compartilham muitas características, incluindo a homologia de DNA, determinantes antigênicos, tropismo tecidual e sinais clínicos. Entretanto, eles ainda podem ser distinguidos por diferenças sutis, mas significativas, nessas propriedades.

Proteínas do Vírus do Herpes Simples

O genoma do HSV é suficientemente grande para codificar cerca de 80 proteínas. Apenas metade dessas é necessária para a replicação viral; as outras proteínas facilitam a interação do HSV com diferentes células do hospedeiro e com a resposta imune. O genoma do HSV codifica enzimas, incluindo uma DNA polimerase DNA-dependente e enzimas captadoras, como desoxirribonuclease, timidina quinase, ribonucleotídeo redutase e protease. A ribonucleotídeo redutase converte ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos, e a timidina quinase fosforila os desoxirribonucleotídeos para fornecer substratos para a replicação do genoma viral. As especificidades dos substratos dessas enzimas e da DNA polimerase diferem significativamente daquelas dos seus análogos celulares; portanto, representam bons alvos potenciais para a quimioterapia antiviral.

O HSV codifica pelo menos 10 glicoproteínas que atuam como proteínas de adesão viral (gB, gC, gD, gE/gI), proteínas de fusão (gB, gH/gL), proteínas estruturais, proteínas de evasão imune (gC, gE, gI) e outras funções. Por exemplo, o componente C3 do sistema complemento se liga a gC, tornando-se reduzido no soro. A porção Fc da imunoglobulina (Ig)G se liga ao complexo gE/gI, camuflando, desse modo, o vírus e as células por ele infectadas. Essas ações reduzem a eficácia antiviral dos anticorpos.

Replicação

O HSV pode infectar a maioria dos tipos de células humanas e mesmo células de outras espécies. O vírus geralmente causa infecções líticas de fibroblastos e células epiteliais e infecções latentes em neurônios (ver Cap. 36, Fig. 36-11, para um diagrama).

O HSV-1 liga-se rápida e eficientemente às células por meio de uma interação inicial com heparan sulfato, um proteoglicano encontrado no exterior de muitos tipos de celulares, e então pela interação mais estreita com proteínas receptoras na superfície celular. A penetração na célula requer interações com nectina-1 (mediador C de entrada de herpesvírus), uma molécula de adesão intercelular, que é um membro da família das imunoglobulinas e similar ao receptor de poliovírus. A nectina-1 é encontrada na maioria das células e em neurônios. Outro receptor é o HveA, um membro da família dos receptores do fator de necrose tumoral, que é expressado em células T ativadas, neurônios e outras células. O HSV é capaz de penetrar a célula hospedeira pela fusão de seu envelope com a membrana da superfície celular. Com a fusão, o vírion libera seu capsídeo no citoplasma, juntamente com uma proteína que promove o início da transcrição dos genes virais, uma proteína quinase codificada pelo vírus e proteínas citotóxicas. O capsídeo liga-se a um poro nuclear e libera o genoma no núcleo.

Os produtos dos genes precoces imediatos incluem proteínas que se ligam ao DNA, as quais estimulam a síntese de DNA e promovem a transcrição dos genes virais precoces. Durante infecção latente de neurônios, a única região do genoma a ser transcrita gera os transcritos associados com latência (LATs, latency-associated transcripts). Esses RNAs não são traduzidos em proteínas, mas codificam micro-RNAs que inibem a expressão de genes precoces imediatos importantes e outros genes.

As **proteínas precoces** incluem a DNA polimerase DNA- -dependente e uma timidina quinase. Por serem proteínas catalíticas, são requeridas relativamente poucas cópias dessas enzimas para promover a replicação. Outras proteínas precoces inibem a produção e iniciam a degradação de RNA mensageiro (RNAm) e DNA celulares. A expressão dos genes precoces e tardios geralmente resulta em morte celular.

O genoma é replicado logo após a síntese da polimerase. Inicialmente são gerados genomas circulares, concatâmeros terminoterminais. Mais tarde, na infecção, o DNA é replicado por um mecanismo de círculo rolante, produzindo uma cadeia linear de genomas que, conceitualmente, se assemelha a um rolo de papel higiênico. Os concatâmeros são clivados em genomas individuais à medida que o DNA é sugado para dentro de um procapsídeo.

A replicação do genoma desencadeia a transcrição de genes tardios, a partir dos quais são codificadas proteínas estruturais e outras proteínas virais. São necessárias muitas cópias das proteínas estruturais. As proteínas do capsídeo são então transportadas para o núcleo, onde são montadas em procapsídeos vazios e preenchidas com DNA. Os capsídeos contendo DNA associam-se com membranas nucleares rompidas por proteínas virais, penetrando e, em seguida, brotando através do retículo endoplasmático, sendo liberados no citoplasma. As glicoproteínas virais são sintetizadas e processadas como glicoproteínas celulares. Proteínas tegumentares associam-se com capsídeo viral no citoplasma, e, então, o capsídeo penetra em uma porção da rede trans-Golgi, adquirindo seu envelope que contém glicoproteínas. O vírus é liberado por exocitose ou lise celular. O vírus pode também se disseminar entre células através de pontes intercelulares, o que permite escapar à detecção de anticorpos. A formação de sincícios induzida pelo vírus também dissemina a infecção.

A infecção de neurônios por HSV pode resultar em replicação viral ou no estabelecimento de latência, dependendo dos genes virais que o neurônio seja capaz de transcrever. A transcrição dos LATs e de nenhum outro gene viral resultará em latência. Como outros alfa-herpes-vírus, o HSV codifica uma timidina quinase (enzima captadora) para facilitar a replicação em células que não se dividem, como os neurônios. O HSV também codifica a ICP34.5, uma proteína única que possui múltiplas funções, facilitando o crescimento do vírus em neurônios. A ICP34.5 remove o bloqueio celular contra a síntese de proteínas, que é ativado em resposta à infecção viral ou como parte da resposta ao interferon (IFN)-α.

Patogênese e Imunidade

Os mecanismos envolvidos na patogênese de HSV-1 e HSV-2 são muito semelhantes (Quadro 43-2). Ambos os vírus inicialmente infectam e se replicam em células mucoepiteliais, causam doença no local de infecção e então estabelecem uma infecção latente do neurônio que inerva a área. O HSV-1 e o HSV-2 diferem nas características de crescimento e antigenicidade, e o HSV-2 tem potencial maior para causar viremia, com sintomas sistêmicos semelhantes aos da gripe.



Quadro 43-2 Mecanismos Patológicos do Vírus do Herpes Simples

A doença começa por contato direto e depende do tecido infectado (p. ex., oral, genital, cerebral).

- O vírus causa efeitos citopatológicos diretos.
- O vírus evita os anticorpos pela disseminação célula a célula e formação de sincícios.
- O vírus estabelece latência em neurônios (escapa à resposta imune).
- O vírus é reativado da latência por estresse ou imunossupressão.
- A imunidade celular é requerida para a resolução, com papel limitado dos anticorpos.
- Os efeitos imunopatológicos mediados por células contribuem para os sintomas.

O HSV pode causar infecções **líticas** na maioria das células e infecções **latentes** em neurônios. A citólise costuma resultar da inibição, induzida pelo vírus, da síntese celular de macromoléculas, da degradação do DNA da célula hospedeira, da permeação da membrana, da ruptura do citoesqueleto e da senescência da célula. Ocorrem alterações visíveis na estrutura nuclear e na marginação da cromatina, e são produzidos **corpos de inclusão intranucleares acidofílicos do tipo Cowdry A**. Muitas cepas de HSV também iniciam a formação de **sincícios**. Em cultura de tecidos, o HSV mata as células rapidamente, conferindo-lhes aparência arredondada.

O HSV inicia a infecção através de membranas mucosas ou rupturas na pele. O vírus replica-se nas células na base da lesão e infecta o neurônio que inerva a região, trafegando através do transporte retrógrado para o gânglio (os gânglios trigeminais para o HSV oral e os sacrais para o HSV genital) (Fig. 43-5). As células T CD8 e o IFN-γ são importantes para manter o HSV em latência. Com a reativação, o vírus então retorna ao local inicial de infecção, podendo produzir infecção inaparente ou **lesões vesiculares**. O líquido das vesículas contém vírions infecciosos. A lesão tecidual é causada por uma combinação de patologia viral e imunopatologia. O tecido lesionado geralmente se regenera sem formar cicatriz.

Proteções inatas, incluindo interferon e células assassinas naturais (natural killer, NK), podem ser suficientes para limitar a progressão inicial da infecção. Respostas associadas a células T auxiliares 1 (TH1) e de células T CD8 citotóxicas são requeridas para destruir as células infectadas e promover a regressão da doença aguda. Os efeitos imunopatológicos das respostas celular e

inflamatória são uma das causas principais dos sinais clínicos. Anticorpos dirigidos contra as glicoproteínas do vírus neutralizam o vírus extracelular, limitando sua disseminação, mas não são suficientes para a regressão da infecção. Na ausência de imunidade celular funcional, a recorrência da infecção por HSV é provável e pode ser mais grave, e pode se disseminar para os órgãos vitais e o cérebro.

O HSV possui diversos mecanismos para escapar às respostas protetoras do hospedeiro. O vírus bloqueia a inibição da síntese proteica viral induzida por interferon e codifica uma proteína para bloquear o canal transportador associado com processamento (TAP), impedindo a introdução de peptídeos no retículo endoplasmático (RE), o que bloqueia sua associação com moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe I (MHC I) e impede o reconhecimento das células infectadas por células T CD8. O vírus pode escapar à neutralização e à eliminação por anticorpos por meio da disseminação direta célula a célula e por permanecer escondido durante a infecção latente do neurônio. Além disso, o vírion e as células infectadas pelo vírus expressam receptores de anticorpos (Fc) e complemento, que enfraquecem essas defesas humorais.

A infecção latente ocorre nos neurônios e não resulta em lesões detectáveis. A **recorrência** (reativação da infecção) pode ser ativada por diversos estímulos (p. ex., estresse, trauma, febre, luz solar [ultravioleta B]) (Quadro 43-3). Esses eventos desencadeiam a replicação viral em uma célula nervosa individual dentro do feixe e permitem que o vírus descenda pelo nervo, formando lesões sempre no mesmo dermátomo e localização. O estresse desencadeia a reativação por promover a replicação do vírus no nervo, pela depressão transitória da imunidade celular ou por ambos os processos. O vírus pode ser reativado apesar da presença de anticorpos. Entretanto, infecções recorrentes são geralmente menos graves, mais localizadas e de duração mais curta que os episódios primários, em razão da natureza da disseminação e da existência de respostas imunes de memória.



Quadro 43-3 Desencadeadores de Recorrências por Vírus do Herpes Simples

Radiação UV-B (prática de esqui, bronzeamento)

Febre

Estresse emocional (p. ex., provas finais, encontro especial)

Estresse físico (irritação)

Menstruação

Alimentos: picantes, ácidos, alergênico

Imunossupressão:

Transitória (relacionada ao estresse)

Quimioterapia, radioterapia

Vírus da imunodeficiência humana

Epidemiologia

Como o HSV pode estabelecer latência, com o potencial de recorrência assintomática, a pessoa infectada é uma fonte vitalícia de contágio (Quadro 43-4). O HSV é transmitido por meio de secreções e por contato íntimo. Por ser um vírus envelopado, o HSV é muito lábil, sendo rapidamente inativado pelo ressecamento, por detergentes e pelas condições do trato gastrointestinal. Embora o HSV possa infectar células animais, essa infecção é uma doença exclusivamente humana.



Quadro 43-4 Epidemiologia do Vírus do Herpes Simples (HSV)

Doença/Fatores Virais

O vírus causa infecção por toda a vida.

A doença recorrente é uma fonte de contágio.

O vírus pode ser liberado assintomaticamente.

Transmissão

O vírus é transmitido por saliva, secreções vaginais e contato com o fluido de lesão (contato entre mucosas).

O vírus é transmitido oralmente e sexualmente e por deposição nos olhos e fissuras na pele.

O HSV-1 é geralmente transmitido por via oral; o HSV-2, por via sexual, mas não exclusivamente.

Quem Está sob Risco?

Crianças e pessoas sexualmente ativas estão sob risco de doença primária por HSV-1 e HSV-2, respectivamente.

Médicos, enfermeiros, dentistas e outros em contato com secreções orais e genitais estão sob risco de infecções nos dedos (paroníquia herpética).

Pessoas imunocomprometidas e neonatos estão sob risco de doença disseminada, com risco de morte.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Fármacos antivirais estão disponíveis para tratamento e profilaxia.

Não há vacina disponível.

Profissionais da saúde devem usar luvas para prevenir a paroníquia herpética.

Pessoas com lesões genitais ativas devem evitar o contato sexual até que as lesões estejam completamente reepitelizadas.

O HSV é transmitido pelo líquido das vesículas, da saliva e de secreções vaginais (o "contato entre membranas mucosas"). O local de infecção e, portanto, a doença, são determinados principalmente pelas membranas mucosas que entraram em contato. Ambos os tipos de HSV podem ocasionar lesões orais e genitais.

HSV-1 é geralmente disseminado por contato oral (beijos) ou pelo compartilhamento de copos, escovas de dente ou outros objetos contaminados com saliva. O HSV-1 pode infectar os dedos ou o corpo por meio de corte ou abrasão na pele. A autoinoculação pode também causar a infecção de olhos e dedos.

A infecção por HSV-1 é comum. Mais de 90% das pessoas que vivem em áreas subdesenvolvidas apresentam o anticorpo contra HSV-1 aos dois anos de idade.

O HSV-2 é disseminado principalmente por contato sexual, por autoinoculação ou da mãe infectada para o bebê durante o parto. Dependendo das práticas sexuais e da higiene de uma pessoa, o HSV-2 pode infectar genitália, tecidos anorretais ou orofaringe. A incidência de infecção genital por HSV-1 está se aproximando à do HSV-2. O HSV pode causar infecção genital primária sintomática ou assintomática, ou recorrências. A infecção neonatal geralmente resulta da excreção de HSV-2 pela cérvix durante o parto normal (Caso Clínico 43-1), mas pode ocorrer a partir de infecção intrauterina ascendente durante a infecção primária da mãe. A infecção neonatal resulta em doença disseminada e neurológica, com consequências graves.



Caso Clínico 43-1 Vírus do Herpes Simples (HSV) Neonatal

Parvey e Ch'ien (Pediatrics 65:1150-1153, 1980) relataram um caso de HVS neonatal contraído durante o parto. Ao longo de um parto de apresentação pélvica, um monitor fetal foi colocado nas nádegas do bebê, e em razão do grande prolongamento do trabalho de parto, o bebê nasceu de cesariana. O menino de aproximadamente 2,2 quilogramas teve pequenas complicações que foram tratadas com sucesso; porém, no sexto dia, vesículas com base eritematosa apareceram no local onde o monitor fetal tinha sido colocado. HSV foi cultivado a partir do líquido vesicular e do fluido espinal, córnea, saliva e sangue. O bebê tornou-se moribundo, com frequentes episódios de apneia e convulsões. Iniciouse tratamento intravenoso com adenosina arabinosídeo (ara-A; vidarabina). O bebê também desenvolveu bradicardia e episódios ocasionais de vômitos. As vesículas de disseminaram, cobrindo as extremidades inferiores, assim como costas, palmas, narinas e pálpebra direita. Dentro de 72 horas de tratamento com ara-A, a condição do bebê começou a melhorar. O tratamento foi mantido por 11 dias, quando foi interrompido em decorrência da baixa contagem de plaquetas. O bebê recebeu alta no 45° dia depois do nascimento, e desenvolvimento normal foi relatado ao primeiro e segundo anos de idade. Na sexta semana após o nascimento, lesões de herpes foram encontradas na vulva da mãe. Esse foi um caso afortunado de infecção neonatal por HSV, no qual o bebê foi tratado, com sucesso, com ara-A e conseguiu superar os danos causados pela infecção. O vírus, muito possivelmente um HSV-2, foi provavelmente contraído através de uma abrasão ocasionada pelo monitor fetal, enquanto o neonato estava no canal vaginal. Ara-A foi substituída desde então por drogas antivirais que são melhores, menos tóxicas e mais fáceis de administrar: aciclovir, valaciclovir e fanciclovir.

A infecção inicial por HSV-2 ocorre mais tarde na vida do que a infecção por HSV-1 e correlaciona-se com aumento da atividade sexual. As estatísticas atuais indicam que 25% dos adultos nos Estados Unidos estão infectados pelo HSV-2, o que representa aproximadamente 45 milhões de pessoas, com mais de um milhão de novos casos por ano.

Síndromes Clínicas

O HSV-1 e o HSV-2 são patógenos humanos comuns que causam manifestações dolorosas, porém benignas, e doença recorrente (Fig. 43-3). As doenças por HSV podem ser causadas quer por HSV-1, quer por HSV-2, a menos que seja especificado. HSV pode ocasionar morbidade e mortalidade significativas em infecções oculares ou cerebrais e na infecção disseminada de indivíduos imunossuprimidos ou neonatos. Na manifestação clássica, a lesão é uma vesícula clara sobre uma base eritematosa ("orvalho em uma pétala de rosa"), progredindo então para lesões pustulares, úlceras e lesões crostosas (Fig. 43-4).

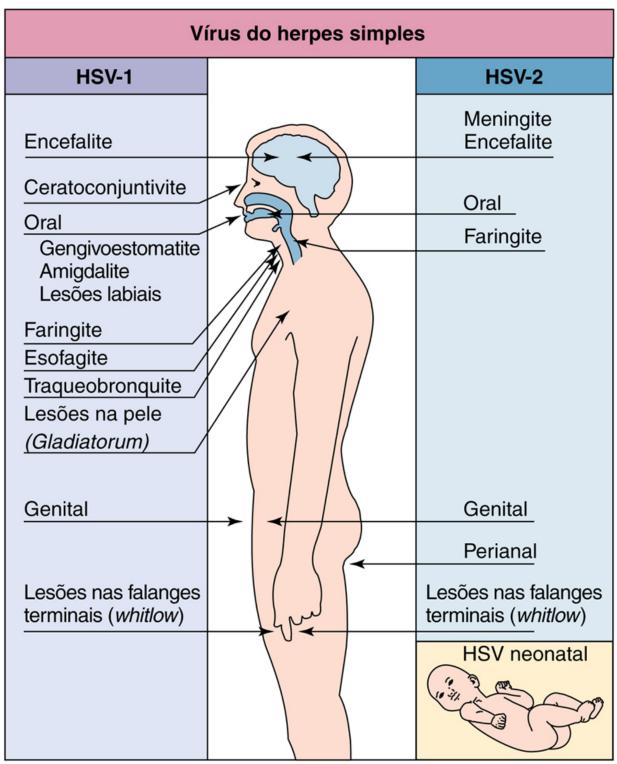


FIGURA 43-3 Síndromes das doenças por herpes do vírus simples (*HSV*). HSV-1 e HSV-2 podem infectar os mesmos tecidos e causar doenças semelhantes, mas têm predileção por locais e doenças indicados.

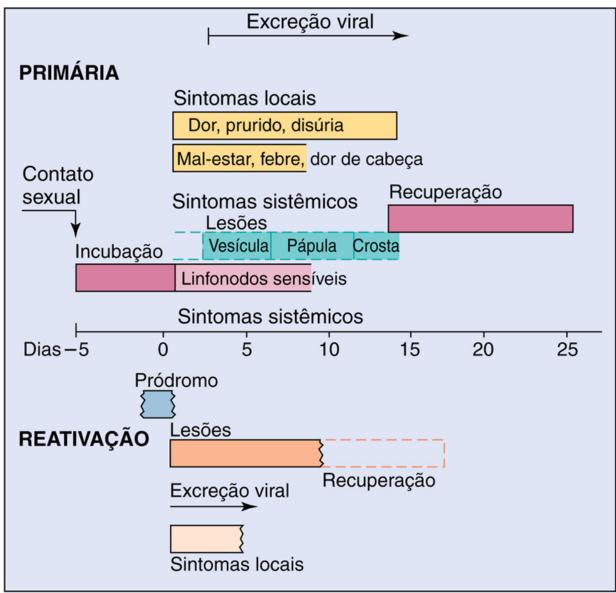
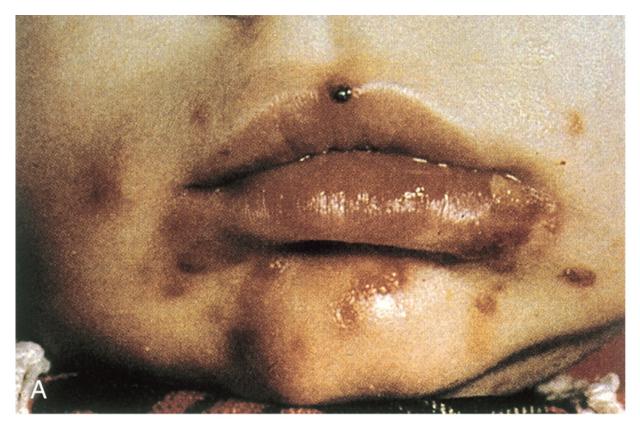


FIGURA 43-4 Evolução clínica da infecção por herpes genital. Compara-se o tempo de evolução e os sintomas de infecção genital primária e recorrente com vírus do herpes simples 2. *Acima*, infecção primária; *abaixo*, doença recorrente. (Dados de Corey L, Adams HG, Brown ZA, et al: Genital herpes simplex virus infection: clinical manifestations, course and complications, *Ann Intern Med* 98:958–972, 1983.)

Herpes oral pode ser causado por HSV-1 ou HSV-2. Lesões do herpes labial ou da gengivoestomatite iniciam-se como vesículas claras que formam úlceras rapidamente. As vesículas podem se distribuir amplamente em torno ou por toda a boca, envolvendo palato, faringe, gengivas, mucosa bucal e língua (Fig. 43-5). Muitas outras condições (p. ex., lesões causadas por coxsackievírus, aftas, acne) podem se assemelhar às lesões por HSV.



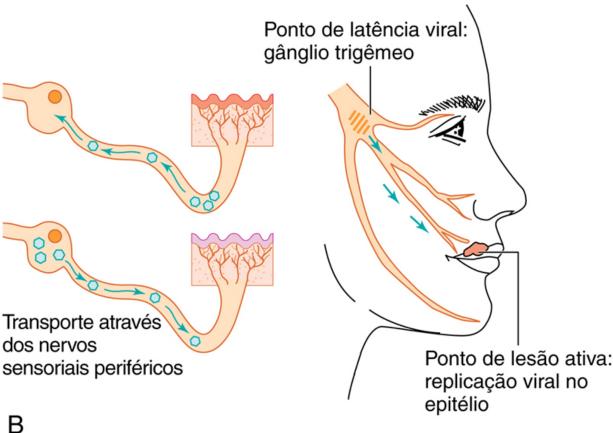


FIGURA 43-5 A, Gengivoestomatite herpética primária. B, O vírus do herpes simples estabelece infecção latente e pode recorrer a partir dos gânglios trigeminais. (A, De Hart CA, Broadhead RL: A color atlas of pediatric infectious diseases, London, 1992, Wolfe. B, Modificado de Straus SE: Herpes simplex virus and its relatives. In Schaechter M, Eisenstein BI, Medoff G, editors: Mechanisms of microbial disease, ed 2, Baltimore, 1993, Williams & Wilkins.)

Pessoas infectadas podem apresentar infecção mucocutânea recorrente por HSV (herpes labial) (Fig. 43-6), mesmo sem a ocorrência de infecção primária clinicamente aparente. As lesões geralmente ocorrem nos cantos da boca ou próximo aos lábios. Infecções recorrentes por herpes facial são geralmente ativadas a partir dos gânglios trigeminais. Conforme citado, os sintomas de um episódio recorrente são menos graves, mais localizados e de menor duração que aqueles de um episódio primário. Faringite herpética está se tornando um diagnóstico prevalente em adultos jovens com dor de garganta.



FIGURA 43-6 Vesícula de herpes labial recorrente. A recorrência é menos grave que a doença primária. (De Hart CA, Broadhead RL: A color atlas of pediatric infectious diseases, London, 1992, Wolfe.)

A **ceratite herpética** quase sempre se limita a um olho. Pode provocar doença recorrente, acarretando cicatrização permanente, lesão de córnea e cegueira. As respostas imunes TH17 são mais importantes no controle de infecções oculares do que outras infecções por HSV.

Paroníquia herpética é uma infecção do dedo, e **herpes** *gladiatorum*, uma infecção do corpo. O vírus estabelece a infecção através de cortes ou abrasões na pele. A paroníquia herpética costuma ocorrer em enfermeiros ou médicos que atendem pacientes com infecções por HSV, em crianças que chupam o dedo (Fig. 43-7) e em pessoas com infecções genitais por HSV. Herpes *gladiatorum* é frequentemente contraído durante a prática de lutas ou rúgbi.



FIGURA 43-7 Lesões herpéticas nas falanges terminais (whitlow). (De Emond RTD, Rowland HAK: A color atlas of infectious diseases, ed 3, London, 1995, Mosby.)

Eczema herpético é contraído por crianças com eczema ativo. A doença subjacente promove a disseminação da infecção ao longo da pele e, potencialmente, para glândulas adrenais, fígado e outros órgãos.

Herpes genital pode ser causado por HSV-1 ou HSV-2. Em pacientes masculinos, as lesões se desenvolvem tipicamente na glande ou no freio do pênis e, às vezes, na uretra. Em pacientes femininos, as lesões podem ser vistas na vulva, na vagina, no colo uterino, na área perianal ou na parte interna das coxas, sendo frequentemente acompanhadas por prurido e corrimento vaginal mucoide. Sexo anal pode acarretar proctite herpética, uma condição na qual as lesões se localizam na porção inferior do reto e no ânus. As lesões são, em geral, dolorosas. Em pacientes de ambos os sexos, a infecção primária pode ser acompanhada por febre, mal-estar e mialgia, que são sintomas relacionados com viremia transitória. Os sintomas e a evolução temporal do herpes genital primário e recorrente são comparados na Figura 43-4.

A doença genital recorrente por HSV é mais curta e menos grave que o episódio primário. Em cerca de 50% dos pacientes, as recorrências são precedidas por um pródromo característico de queimação ou formigamento na área onde as lesões finalmente surgirão. Episódios de recorrência podem ocorrer, com frequência, a cada duas ou três semanas, ou podem ser ocasionais. Infelizmente, pessoas infectadas podem liberar o vírus de forma assintomática. Tais indivíduos podem ser importantes vetores para a disseminação do vírus.

A encefalite herpética é quase sempre causada por HSV-1. As lesões são geralmente limitadas a um dos lobos temporais. A patologia e imunopatologia virais causam a destruição do lobo temporal, resultando em eritrócitos no líquido cefalorraquidiano, convulsões, anormalidades neurológicas focais e outras características da encefalite viral. O HSV é a causa mais comum de encefalite esporádica e resulta em morbidade e mortalidade significativas, mesmo em pacientes que recebem o tratamento apropriado. A doença ocorre em todas as idades e épocas do ano. A meningite por HSV pode ocorrer como complicação da infecção genital por HSV-2, e nesse caso, os sintomas são autolimitados.

A infecção por HSV no neonato é uma doença devastadora e frequentemente fatal, provocada, na maioria das vezes, por HSV-2. Pode ser adquirida na vida intrauterina, mas é contraída com mais frequência durante a passagem do bebê pelo canal vaginal (possivelmente no local de monitoração no couro cabeludo do bebê), em razão da liberação do herpes-vírus pela mãe no momento do parto, ou no pós-natal, a partir de membros da família ou profissionais do hospital. O bebê inicialmente parece séptico, podendo ou não haver lesões vesiculares. Como a resposta imune celular ainda não está desenvolvida no neonato, o HSV se dissemina para o fígado, pulmões e outros órgãos, assim como para o sistema nervoso

central (SNC). A progressão da infecção para o SNC resulta em morte, retardo mental ou déficits neurológicos, mesmo com tratamento.

Diagnóstico Laboratorial

Análise Direta de uma Amostra Clínica

Os efeitos citopatológicos característicos (ECPs) podem ser identificados em um **esfregaço de Tzanck** (uma raspagem da base da lesão), em um exame de Papanicolaou (Pap) ou em uma amostra de biópsia (Tabela 43-2). Os ECPs incluem sincícios, citoplasma vacuolado e inclusões intranucleares do tipo Cowdry A (Cap. 39, Fig. 39-2). Diagnóstico definitivo pode ser feito pela demonstração da presença de antígenos (utilizando imunofluorescência ou o método da imunoperoxidase) ou de DNA viral (por hibridização *in situ* ou reação em cadeia da polimerase [PCR]) na amostra de tecido ou no líquido da vesícula.



Tabela 43-2

Diagnóstico Laboratorial de Infecções por Vírus do Herpes Simples (HSV)

Abordagem	Teste/Comentário	
Exame microscópico direto de células na base da lesão (esfregaço de Tzanck)	Células gigantes multinucleadas e corpos de inclusão tipo Cowdry A em células	
Cultura de células	Efeito citopatológico identificável na maioria das culturas de células	
Ensaio de biópsia de tecido, esfregaço, líquido cefalorraquidiano ou líquido vesicular para antígenos ou genoma de HSV	Ensaio imunoenzimático, coloração imunofluorescente, análise por sonda de DNA <i>in situ</i> e PCR	
Distinção entre os tipos de HSV (HSV-1 <i>versus</i> HSV-2)	Anticorpo tipo-específico, mapas de DNA de fragmentos de restrição enzimática, padrões de proteína de dodecil sulfato de sódio-gel, análise de sonda de DNA e PCR	
Sorologia	A sorologia não é útil, exceto na epidemiologia	

DNA, Ácido desoxirribonucleico; PCR, reação em cadeia da polimerase.

Isolamento do Vírus

O isolamento do vírus é o ensaio mais definitivo para o diagnóstico de infecção por HSV. O vírus pode ser obtido a partir de vesículas, mas não de lesões crostosas. As amostras são coletadas por aspiração do líquido da lesão ou pela aplicação de um *swab* nas vesículas e inoculação direta em culturas de células.

O HSV produz ECPs após 1-3 dias em células HeLa, fibroblastos embrionários humanos e outras células. As células infectadas tornam-se aumentadas e adquirem aparência globosa (Cap. 39, Fig. 39-4). Alguns isolados induzem a fusão entre células vizinhas, gerando células gigantes multinucleadas (sincícios). Uma abordagem nova e sensível para o isolamento e identificação utiliza uma linhagem celular que expressa β-galactosidase em infecções de células com HSV (sistema enzimático induzível por vírus [ELVIS, *enzyme-linked viral inducible system*]). A adição do substrato apropriado produz cor e permite a detecção da enzima nas células infectadas.

Detecção de Genomas

Sondas de DNA específicas para cada tipo de HSV e *primers* específicos de DNA para PCR e PCR quantitativa são utilizados para diferenciar HSV-1 e HSV-2. A **análise por PCR** de líquido cefalorraquidiano substituiu a análise de biópsia cerebral por imunofluorescência para o diagnóstico de encefalite herpética. A distinção entre HSV-1 ou HSV-2 e linhagens diferentes de cada vírus pode ser feita também por padrões de clivagem do DNA viral por endonucleases de restrição.

Sorologia

Procedimentos sorológicos são úteis apenas para o diagnóstico de infecção primária por HSV e para estudos epidemiológicos. Eles não são úteis para o diagnóstico de doença recorrente, porque aumento significativo nos títulos de anticorpos geralmente não acompanha esta doença.

Tratamento, Prevenção e Controle

O HSV codifica diversas enzimas-alvo para fármacos antivirais (Quadro 43-5) (Cap. 40). A maioria dos fármacos antiherpéticos consiste em análogos de nucleosídeos que são ativados pela timidina cinase viral e inibem a DNA polimerase viral, uma enzima essencial para a replicação do vírus e o melhor alvo para os fármacos antivirais. O tratamento previne ou diminui o curso da doença primária ou recorrente. Nenhum dos tratamentos medicamentosos pode eliminar a infecção latente.



Quadro 43-5 Tratamentos Antivirais Aprovados pela FDA para Infecções por

Herpes-vírus

Herpes Simples 1 e 2

Aciclovir

Penciclovir

Valaciclovir

Fanciclovir

Trifluridina

Vírus Varicela-zóster

Aciclovir

Fanciclovir

Valaciclovir

Imunoglobulina contra varicela-zóster (VZIG)

Plasma imune contra zóster

Vacina viva

Vírus Epstein-Barr

Nenhum

Citomegalovírus

Ganciclovir*

Valganciclovir*

Foscarnet*

Trifluridina

Cidofovir*

FDA, U.S. Food and Drug Administration.

O protótipo dos fármacos anti-HSV é o aciclovir (ACV). Valaciclovir (0 valil-éster ACV), penciclovir e fanciclovir (um derivado de penciclovir) estão relacionados com ACV em seus mecanismos de ação, mas apresentam propriedades farmacológicas diferentes. Vidarabina (adenosina arabinosídeo [ara A]), idoxuridina (iododesoxiuridina) e trifiuridina, também aprovadas pela U.S. Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de HSV, são menos efetivas. Embora o cidofovir e o adefovir sejam ativos contra HSV, o cidofovir é aprovado somente para o tratamento de CMV.

ACV é o fármaco anti-HSV mais prescrito. A fosforilação do ACV e do penciclovir pela **timidina quinase** viral e por enzimas celulares ativa o fármaco como um substrato para a **DNA polimerase** viral. Esses fármacos são então incorporados e **impedem o alongamento do DNA viral** (Cap. 40, Fig. 40-2). ACV, valaciclovir, penciclovir e fanciclovir são relativamente atóxicos, efetivos no tratamento de apresentações graves da doença por HSV e episódios iniciais de herpes genital e também utilizados para o tratamento profilático.

A forma mais prevalente de resistência contra esses fármacos resulta de mutações que inativam a timidina quinase, impedindo assim a conversão do fármaco em sua forma ativa. Mutação na DNA polimerase viral também produz resistência. Felizmente, as linhagens resistentes parecem ser menos virulentas.

Ara-A é menos solúvel, menos potente e mais tóxica que ACV. Trifluridina, penciclovir e ACV substituíram a iododesoxiuridina como agentes tópicos para o tratamento da ceratite herpética. Tromantadina, um derivado da amantadina, está aprovada para o uso tópico fora dos Estados Unidos. Esse fármaco atua inibindo a penetração e a formação de sincício. O docosanol inibe a entrada do vírus, e outras terapêuticas sem prescrição médica podem ser eficazes para cada paciente individualmente.

Evitar o contato direto com lesões reduz o risco de infecção. Infelizmente, os sintomas podem ser inaparentes, e assim o vírus pode ser transmitido sem o seu portador ter conhecimento da infecção. Médicos, enfermeiros, dentistas e técnicos devem ser especialmente cuidadosos quando manusearem tecidos ou fluidos potencialmente infectados. O uso de luvas pode prevenir a aquisição de infecções nos dedos (paroníquia herpética). Pessoas com paroníquia herpética recorrente são muito contagiosas, podendo disseminar a infecção para pacientes.

O HSV é inativado rapidamente por sabão, desinfetantes, alvejantes e etanol a 70%. A lavagem com sabão inativa rapidamente o vírus.

Pacientes que apresentam história de infecção genital por HSV devem ser instruídos a evitar relações sexuais enquanto apresentarem sintomas prodrômicos ou lesões, só retomando as atividades sexuais depois que as lesões estiverem

^{*} Também inibem os vírus do herpes simples e varicela-zóster.

completamente reepitelizadas, porque o vírus pode ser transmitido a partir de lesões crostosas. Embora o uso de preservativos não proteja por completo, seu uso é certamente mais vantajoso que a ausência de proteção.

Uma mulher grávida com infecção genital ativa por HSV ou que esteja liberando o vírus assintomaticamente na vagina no momento do parto pode transmitir o HSV para o neonato se o parto for vaginal. Previne-se essa transmissão pelo parto cesáreo.

Não há vacinas disponíveis atualmente contra o HSV. No entanto, estão em processo de desenvolvimento vacinas com o vírus inativado, vacinas de subunidades virais, vacínias hibridas, vacinas geneticamente atenuadas e vacinas de DNA para prevenir a infecção pelo vírus ou para tratar os indivíduos infectados. A glicoproteína D está sendo utilizada em diversas dessas vacinas experimentais.

Vírus Varicela-zóster

O VZV causa **catapora (varicela)** e, na recorrência, **herpes-zóster ou cobreiro**. Por ser um alfa-herpes-vírus, o VZV compartilha muitas características com o HSV, incluindo (1) a capacidade de estabelecer infecção latente em neurônios e doença recorrente, (2) a importância da imunidade celular no controle e na prevenção da doença grave e (3) as lesões bolhosas características. Como o HSV, o VZV codifica uma **timidina quinase** e é suscetível aos mesmos **fármacos antivirais**. Diferente do HSV, o VZV se dissemina predominantemente pela **via respiratória** e, após a replicação local do vírus no trato respiratório por viremia, ocorre a formação de lesões cutâneas em todo o corpo.

Estrutura e Replicação

O VZV possui o menor genoma dos herpes-vírus humanos. Esse vírus se replica de maneira semelhante, porém mais lentamente e em menos tipos celulares que o HSV. Fibroblastos diploides humanos *in vitro* e células T ativadas, células epiteliais e epidérmicas *in vivo* permitem a replicação produtiva do VZV. O novo VZV é sequestrado em lisossomos e degradado na maioria das células, devido à sua ligação ao receptor de manose-6-fosfato, mas é liberado por células da pele terminalmente diferenciadas, que não possuem esta proteína. Como tal, o vírus propaga-se no organismo pelo contato célula a célula. Como o HSV, o VZV estabelece infecção latente em neurônios, mas, diferentemente do HSV, diversos RNAs e proteínas virais específicas podem ser detectados nas células infectadas de forma latente.

Patogênese e Imunidade

O VZV é, em geral, adquirido por inalação, e a infecção primária se inicia nas amígdalas e na mucosa do trato respiratório. O vírus então progride, através da corrente sanguínea e do sistema linfático, para as células do sistema reticuloendotelial (Figs. 43-8 e 43-9; Quadro 43-6). Viremia secundária ocorre depois, disseminando o vírus por todo o corpo e para a pele. O vírus infecta células T e essas células migram para a pele e transferem o vírus para as células epiteliais cutâneas. O VZV supera a ação do IFN-α e vesículas são produzidas na pele. O vírus permanece associado a células e é transmitido na interação célula a célula, exceto em células epiteliais terminalmente diferenciadas nos pulmões e ceratinócitos de lesões cutâneas, que podem liberar vírus infecciosos. A replicação do vírus no pulmão é a principal fonte de contágio. O vírus causa um exantema cutâneo vesiculopapular que se desenvolve em estágios sucessivos. Febre e sintomas sistêmicos ocorrem com o exantema.

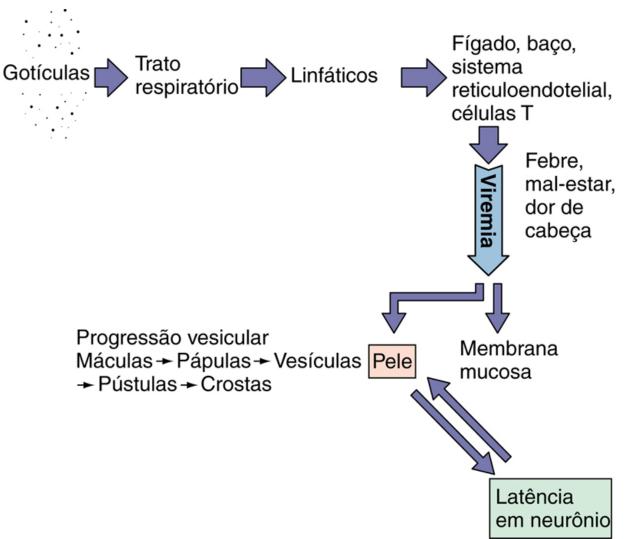


FIGURA 43-8 Mecanismo de disseminação do vírus varicela-zóster (VZV) no organismo. O VZV infecta inicialmente o trato respiratório e se dissemina para o sistema reticuloendotelial, células T e, por meio de viremia associada com células, para a pele.

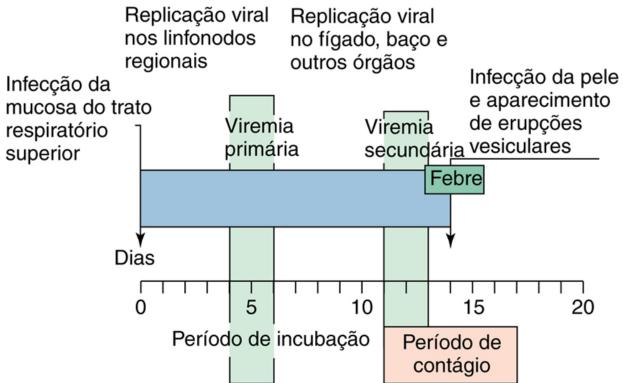


FIGURA 43-9 Curso temporal da varicela (catapora). O curso em crianças pequenas, como apresentado nesta figura, é geralmente mais curto e menos grave que em adultos.



Quadro 43-6 Mecanismos Patológicos do Vírus Varicela-zóster (VZV)

A replicação inicial ocorre no trato respiratório.

- O VZV infecta células epiteliais, fibroblastos, células T e neurônios.
- O VZV pode formar sincícios e se disseminar diretamente de célula a célula.
- O vírus dissemina-se por viremia nas células T para a pele e causa lesões em estágios sucessivos.
- O VZV pode escapar à eliminação por anticorpos, e a resposta imune mediada por células é essencial para controlar a infecção. Doença disseminada com risco de morte pode ocorrer em pessoas imunocomprometidas.
- O vírus estabelece infecção latente em neurônios, geralmente da raiz dorsal e de gânglios de nervos cranianos.
- Herpes-zóster é uma doença recorrente; resulta da replicação viral ao longo de todo o dermátomo.
- Herpes-zóster resulta de depressão da imunidade celular.

O vírus torna-se latente na raiz dorsal ou em gânglios de nervos cranianos após a infecção primária. Pode ser reativado em adultos mais velhos quando a imunidade decresce ou em pacientes com imunidade celular prejudicada. Na reativação, o vírus se replica e é liberado ao longo de toda a via neural, infectando a pele e ocasionando exantema vesicular no trajeto de todo o dermátomo, o que é chamado de **herpes-zóster** ou **cobreiro**. Isso danifica o neurônio e pode resultar em neuralgia pós-herpética muito dolorosa.

O IFN-α, as proteções induzidas por interferon e as células T e NK limitam a disseminação do vírus nos tecidos, mas a presença de **anticorpos** é importante para limitar a disseminação virêmica do VZV. A imunização passiva com **imunoglobulina contra varicela-zóster (VZIG)**, dentro de quatro dias após a exposição, é protetora. A imunidade mediada por celula é essencial para a resolução da doença aguda e para controlar a infecção latente. O vírus causa doença mais disseminada e mais grave na ausência de imunidade mediada por células (p. ex., em crianças com leucemia), podendo haver recorrência em casos de imunossupressão. Embora sejam importantes na proteção, as respostas imunológicas mediadas por células (imunidade celular) contribuem para a sintomatologia. Resposta exacerbada em adultos com infecção primária é responsável por ocasionar lesões celulares mais extensas e manifestações mais graves (especialmente no pulmão) que aquelas vistas em crianças. Os níveis de anticorpos e células T diminuem com o avanço da idade, permitindo a recorrência do VZV e o surgimento de herpes-zóster.

Epidemiologia

O VZV é extremamente contagioso, com taxas de infecção superiores a 90% entre contatos suscetíveis no ambiente doméstico (Quadro 43-7). A doença é disseminada principalmente pela via respiratória, mas pode também ser transmitida pelo contato direto com vesículas cutâneas. Os pacientes permanecem contagiosos antes e durante o surgimento dos sintomas. Mais de 90% dos adultos em países desenvolvidos apresentam o anticorpo contra VZV. Herpes-zóster resulta da reativação do vírus latente de um paciente. A doença desenvolve-se em cerca de 10% a 20% da população infectada com

VZV, e a incidência aumenta com a idade. As lesões do herpes-zóster contêm o vírus viável, podendo constituir uma fonte de infecção de varicela em pessoas não imunes (crianças).



Quadro 43-7 Epidemiologia do Vírus Varicela-zóster

Doença/Fatores Virais

O vírus causa infecção por toda a vida.

A doença recorrente é uma fonte de contágio.

Transmissão

O vírus é transmitido principalmente por gotículas respiratórias, mas também por contato direto.

Quem Está sob Risco?

Crianças (de 5-9 anos) apresentam doença branda.

Adolescentes e adultos estão sob risco de doença mais grave, com possível pneumonia.

Pessoas imunocomprometidas e neonatos estão sob risco de pneumonia, encefalite e varicela progressiva disseminada potencialmente fatais.

Idosos e imunocomprometidos estão sob risco de doença recorrente (herpes-zóster [cobreiro]).

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Fármacos antivirais disponíveis.

A imunidade pode desvanecer na população idosa.

Imunoglobulina contra varicela-zóster disponível para pessoas imunocomprometidas e profissionais expostos ao vírus, assim como para neonatos de mães que apresentaram sintomas há menos de cinco dias do parto.

Vacina viva (cepa Oka) está disponível para crianças (varicela) e adultos (zóster).

Síndromes Clínicas

Varicela (catapora) é um dos cinco exantemas clássicos da infância (juntamente com rubéola, exantema súbito, eritema infeccioso e sarampo). A doença resulta de infecção primária por VZV; é, em geral, uma doença branda da infância, sendo normalmente sintomática, embora possam ocorrer infecções assintomáticas (Fig. 43-9). As características da varicela incluem febre e exantema maculopapular que surge após um período de incubação de 14 dias (Fig. 43-10). Após horas, cada lesão maculopapular forma uma vesícula de parede fina com base eritematosa ("gota de orvalho em uma pétala de rosa") que mede aproximadamente 2 a 4 mm de diâmetro. Esse tipo de vesícula é a marca característica da varicela. Após 12 horas, a vesícula se torna pustular e começa a formar uma crosta, aparecendo, então, a lesão crostosa. Novas lesões surgem durante 3-5 dias, e todos os estágios de lesões cutâneas podem ser observados a qualquer momento.



FIGURA 43-10 Exantema característico da varicela em todos os seus estágios de evolução. (De Hart CA, Broadhead RL: A color atlas of pediatric infectious diseases, London, 1992, Wolfe.)

O exantema dissemina-se por todo o corpo, porém é mais prevalente no tronco e na cabeça do que nas extremidades. Sua presença no couro cabeludo o distingue de muitos outros exantemas. As lesões são pruriginosas e provocam coceiras, o que pode acarretar superinfecção bacteriana e formação de cicatriz. As lesões em membranas mucosas ocorrem tipicamente em boca, conjuntiva e vagina.

A infecção primária é, de modo geral, mais grave em adultos que em crianças. **Pneumonia intersticial** pode ocorrer em 20% a 30% dos pacientes adultos, podendo ser fatal. A pneumonia resulta de reações inflamatórias no local primário de infecção.

Como citado, **herpes-zóster** (*zóster* significa "cinto" ou "cintura") é a recorrência de infecção latente por varicela adquirida em algum momento anterior na vida do paciente. Dor forte na área de inervação geralmente precede o aparecimento das lesões semelhantes à catapora. O exantema se limita a um dermátomo e se assemelha à varicela (Fig. 43-11). Uma síndrome de dor crônica chamada de **neuralgia pós-herpética**, que pode persistir por meses ou anos, ocorre em até 30% dos pacientes que desenvolvem herpes-zóster.



FIGURA 43-11 Herpes-zóster ("cobreiro") em um dermátomo torácico.

A infecção por VZV em pacientes imunocomprometidos ou neonatos pode resultar em doença grave, progressiva e potencialmente fatal. Defeitos na imunidade celular nesses pacientes aumentam o risco de disseminação do vírus para pulmões, cérebro e fígado, o que pode ser fatal. A doença pode se manifestar em resposta a uma exposição primária à varicela ou em consequência de doença recorrente.

Diagnóstico Laboratorial

Os ECPs nas células infectadas por VZV são semelhantes àqueles vistos nas células infectadas por HSV e inclusões intranucleares do tipo Cowdry A e sincícios. Um teste direto com anticorpos fluorescentes contra antígenos de membrana (FAMA, do inglês *fluorescent antibody to membrane antigen*) pode também ser usado para examinar raspagens de lesões cutâneas ou amostras de biópsias. A detecção de antígenos e genomas é um meio sensível de diagnosticar a infecção por VZV. As técnicas de PCR e de detecção genômica são especialmente úteis para a detecção de doença sistêmica e neuronal.

O isolamento do VZV não é feito rotineiramente porque o vírus é lábil durante o transporte para o laboratório e sua replicação *in vitro* é fraca.

Testes sorológicos que detectam anticorpos contra VZV são usados para a triagem da população quanto à imunidade contra VZV. Entretanto, os níveis de anticorpos normalmente são baixos; exames sensíveis, como imunofluorescência e ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA), devem ser realizados para detectar o anticorpo. Aumento significativo no nível de anticorpos pode ser detectado em pessoas que apresentam herpes-zóster.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento pode ser indicado em adultos e pacientes imunocomprometidos com infecções por VZV e em pessoas com herpes-zóster, mas geralmente não é necessário em crianças com varicela. **ACV, fanciclovir** e **valaciclovir** foram aprovados para o tratamento de infecções por VZV. A DNA polimerase do VZV é muito menos sensível ao tratamento com ACV que a enzima do HSV, sendo necessárias doses maiores de ACV ou a melhor farmacodinâmica de fanciclovir e valaciclovir (Quadro 43-5). Não existe bom tratamento para a neuralgia pós-herpética que se segue ao zóster, mas analgésicos, anestésicos tópicos ou creme de capsaicina podem dar algum alívio.

Como ocorre com outros vírus respiratórios, é difícil limitar a transmissão do VZV. Como a infecção por VZV em crianças é geralmente branda e induz imunidade por toda a vida, a exposição precoce ao VZV é, com frequência, encorajada. Entretanto, indivíduos de alto risco (p. ex., crianças imunossuprimidas) devem ser protegidos da exposição ao VZV.

Pacientes imunossuprimidos suscetíveis a doenças graves podem ser protegidos das formas graves pela administração de **VZIG**. A VZIG é preparada a partir do plasma coletado de pessoas soropositivas. A profilaxia por VZIG pode prevenir a disseminação virêmica que ocasiona doença, mas não é uma terapia efetiva para pacientes que já sofrem de varicela ativa ou herpes-zóster.

Vacina viva atenuada contra VZV (cepa Oka) teve seu uso autorizado nos Estados Unidos e em outros lugares, sendo administrada após os dois anos de idade, nas mesmas datas que a vacina contra sarampo, caxumba e rubéola. A vacina induz a produção de anticorpos protetores e imunidade celular. Uma versão mais potente dessa vacina, que induz respostas antivirais para limitar o início do zóster, está disponível para adultos acima de 60 anos.

Vírus Epstein-Barr

O EBV é o principal parasita de linfócitos B, e as doenças que causa refletem esta associação. O EBV foi descoberto pela observação, por microscopia eletrônica, de vírions característicos de herpes em amostras de biópsia de uma neoplasia de células B, o linfoma de Burkitt ou "linfoma africano" (AfBL, african Burkitt lymphoma). Sua associação com a mononucleose infecciosa foi descoberta acidentalmente quando se observou que o soro coletado de um técnico de laboratório convalescente de mononucleose infecciosa continha o anticorpo que reconhecia as células do AfBL. Este achado foi posteriormente confirmado em grande estudo sorológico realizado em estudantes de colégios.

O EBV causa mononucleose infecciosa positiva para anticorpos heterófilos e estimula o crescimento e imortaliza células B em cultura celular. EBV tem apresentado uma associação causal com AfLB (linfoma de Burkitt endêmico), doença de Hodgkin e carcinoma nasofaríngeo. O EBV foi também associado com linfomas de células B em pacientes com imunodeficiências congênitas ou adquiridas.

Estrutura e Replicação

O EBV é um membro da subfamília Gammaherpesvirinae, com um grupo de hospedeiros muito limitado e um **tropismo tecidual** definido pela expressão celular limitada de seu receptor. O receptor primário para o EBV também é *o receptor para o componente C3d do sistema complemento (também chamado de CR2 ou CD21)*. É expresso em células B de humanos e em macacos do Novo Mundo e em algumas células epiteliais da orofaringe e da nasofaringe. O EBV também se liga ao MHC II.

A infecção por EBV apresenta três desfechos potenciais:

- 1. O EBV pode replicar-se nas células B ou em células epiteliais, permissivas para a replicação de EBV, e produzir vírus.
- 2. O EBV pode causar a infecção latente de células B de memória na presença de células T competentes.
- 3. O EBV pode estimular e imortalizar as células B.
- O EBV codifica mais de 70 proteínas, das quais diferentes grupos são expressos nos diferentes tipos de infecções.

O EBV infecta células epiteliais na saliva; depois, células B virgens (*naïve*) em repouso nas tonsilas. A produção de células B é estimulada primeiramente por meio da ligação entre o vírus e o receptor C3d, um receptor que estimula o crescimento de células B, e então pela expressão das proteínas de transformação e latência. Entre essas estão os **antígenos nucleares de Epstein-Barr (EBNA)** 1, 2, 3A, 3B e 3C; proteínas de latência (**PLs**); **proteínas latentes de membrana 1 e 2**; e duas moléculas pequenas de RNA codificadas pelo Epstein-Barr (EBER), EBER-1 e EBER-2. As EBNAs e PLs são proteínas que se ligam ao DNA e são essenciais para o estabelecimento e manutenção da infecção (EBNA-1), para a imortalização (EBNA-2) e para outros propósitos. As proteínas latentes de membrana são proteínas que apresentam atividade semelhante à de oncoproteínas. O genoma torna-se circular; as células seguem para folículos, que se tornam centros germinativos nos linfonodos, onde células infectadas se diferenciam em células de memória. A síntese de proteínas virais cessa, e o EBV estabelece latência nas células B de memória. EBNA-1 será expressa somente durante o processo de divisão celular para prender e manter o genoma nas células.

A estimulação de células B por antígenos e a infecção de certas células epiteliais permitem a transcrição e tradução da proteína ativadora de transcrição ZEBRA (peptídeo codificado pela região gênica Z), que ativa os genes precoces imediatos do vírus e o ciclo lítico. Após a síntese da DNA polimerase e a replicação do DNA, as proteínas estruturais e tardias são sintetizadas. Elas incluem gp350/220 (glicoproteínas relacionadas de 350.000 e 220.000 Da), que são proteínas virais de adesão, e outras glicoproteínas. Essas glicoproteínas se ligam às moléculas CD21 e MHC II, receptores em células B e células epiteliais, e também promovem a fusão do envelope com as membranas celulares.

As proteínas virais produzidas durante uma infecção produtiva são definidas e agrupadas sorologicamente como **antígeno precoce (EA), antígeno do capsídeo viral (VCA)** e as glicoproteínas do **antígeno de membrana (MA)** (Tabela 43-3). Uma proteína precoce mimetiza o inibidor celular de apoptose e uma proteína tardia mimetiza a atividade da interleucina (IL)-10 humana (BCRF-1), o que aumenta a produção de células B e inibe as respostas imunológicas por TH1 para facilitar a replicação do vírus.



Marcadores de Infecção por Vírus Epstein-Barr (EBV)

Nome	Abreviatura Características		Associação Biológica	Associação Clínica	
Antígenos nucleares de EBV	EBNAs	Nucleares	EBNAs são antígenos não estruturais e são os primeiros antígenos a aparecer. EBNAs são vistos em todas as células infectadas e transformadas	Anti-EBNA desenvolve-se depois da resolução da infecção	
Antígeno EA-R precoce		Somente citoplasmático	EA-R aparece antes de EA-D; seu aparecimento é o primeiro sinal de que a célula infectada entrou no ciclo lítico		
	EA-D	Difuso no citoplasma e no núcleo		Anti-EA-D é visto na mononucleose infecciosa	
Antígeno do capsídeo viral	VCA	Citoplasmático	VCA é um antígeno tardio; encontrado em células que estão produzindo vírus	IgM anti-VCA é transitória; IgG anti-VCA é persistente	
Antígeno de membrana	MA	Superfície celular	MAs são glicoproteínas do envelope	Igual a VCA	
Anticorpo heterófilo		Reconhecimento do antígeno de Paul-Bunnell em eritrócitos de carneiro, cavalo ou bovinos	A proliferação de células B induzida por EBV promove a produção de anticorpo heterófilo	Sintomas precoces ocorrem em mais de 50% dos pacientes	

EA, Antígeno precoce; EBNA, antígeno nuclear de Epstein-Barr; Ig, imunoglobulina; MA, antígeno de membrana; VCA, antígeno do capsídeo viral.

Patogênese e Imunidade

O EBV se adaptou à célula B humana, manipulando e utilizando as diferentes fases do desenvolvimento das células B para estabelecer infecção vitalícia. As doenças por EBV resultam de resposta imune hiperativa (mononucleose infecciosa) ou da falta de um controle imunológico efetivo (doença linfoproliferativa e tricoleucoplaquia).

A infecção produtiva de células B e células epiteliais da orofaringe, como das amígdalas (Fig. 43-12 e Quadro 43-8), promove a liberação do vírus na saliva para transmitir a outros hospedeiros, estabelecendo uma viremia para disseminar o vírus para outras células B em tecidos linfáticos e no sangue.

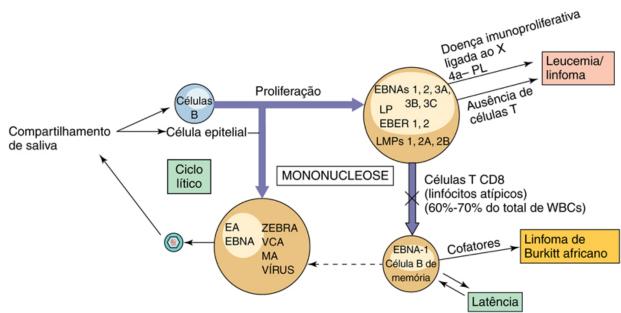


FIGURA 43-12 Progressão da infecção pelo vírus Epstein-Barr (EBV). A infecção pode ser lítica, latente ou imortalizante, o que pode ser distinguido com base na produção do vírus e na expressão de diferentes proteínas e antígenos virais. As células T limitam o supercrescimento das células infectadas pelo EBV e mantêm a infecção latente. CD, Grupamento de diferenciação; EA, antígeno precoce; EBER, RNA codificado por Epstein-Barr; EBNA, antígeno nuclear codificado por Epstein-Barr; LMPs, proteínas latentes de membrana; PL, proteína latente; MA, antígeno de membrana; VCA, antígeno do capsídeo viral; WBCs, leucócitos; ZEBRA, peptídeo codificado pela região gênica Z.



Quadro 43-8 Mecanismos Patológicos do Vírus Epstein-Barr (EBV)

O vírus na saliva inicia a infecção do epitélio oral e se dissemina para células B das amígdalas.

Ocorre infecção produtiva em células B e células epiteliais.

O vírus promove o crescimento de células B (imortalização).

Células T são estimuladas pelas células B infectadas; elas destroem e limitam o supercrescimento de células B. As células T são requeridas para o controle da infecção. O papel dos anticorpos é limitado.

EBV estabelece latência em células B de memória e é reativado quando a célula B é ativada.

A resposta de células T (linfocitose) contribui para os sintomas de mononucleose infecciosa.

Existe uma associação causal com linfoma em pessoas imunossuprimidas e crianças africanas que vivem em regiões de malária (linfoma de Burkitt africano) e com carcinoma nasofaríngeo na China.

As proteínas do EBV substituem os fatores do hospedeiro que normalmente ativam o crescimento e o desenvolvimento de células B. Na ausência de células T (p. ex., em cultura de tecido), o EBV pode imortalizar células B e promover o desenvolvimento de linhagens celulares linfoblastoides B. *In vivo*, a ativação e proliferação de células B ocorrem e são indicadas pela produção anômala de um anticorpo IgM contra o antígeno de Paul-Bunnell, chamado de **anticorpo heterófilo** (ver mais adiante discussão sobre a sorologia).

O desenvolvimento das células B é controlado por uma resposta normal de células T à proliferação de células B e aos peptídeos antigênicos do EBV. Células B são excelentes células apresentadoras de antígenos e mostram os antígenos do EBV tanto pelas moléculas de MHC I quanto de MHC II. Células T ativadas parecem **linfócitos atípicos** (também chamados de **células de Downey**) (Fig. 43-13). Elas tornam-se mais numerosas no sangue periférico durante a segunda semana de infecção, sendo responsáveis por 10% a 80% da contagem total de leucócitos nesse momento (por isso o nome "mononucleose").

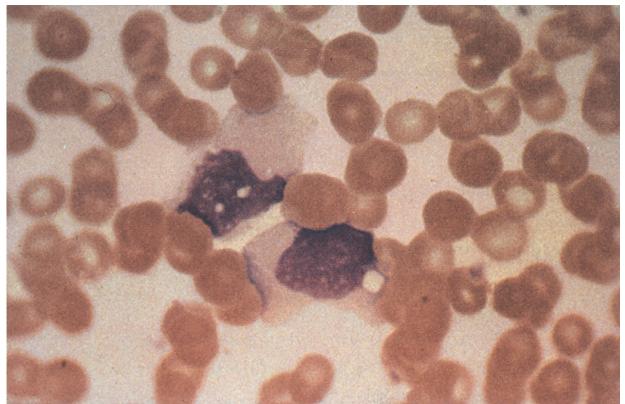


FIGURA 43-13 Célula T atípica (célula de Downey) característica da mononucleose infecciosa. As células apresentam um citoplasma mais basofílico e vacuolizado que os linfócitos normais, e o núcleo pode ser oval, em forma de rim ou lobulado. A margem celular pode ser vista denteada pelos eritrócitos vizinhos.

A mononucleose infecciosa é essencialmente uma "guerra civil" entre as células B infectadas por EBV e as células T protetoras. A clássica linfocitose (aumento de células mononucleares), inchaço de órgãos linfoides (linfonodos, baço e fígado) e malestar são apresentações associadas a mononucleose infecciosa, que resultam principalmente da ativação e proliferação de células T. Grande quantidade de energia é necessária para ativar a resposta por células T, produzindo a grande sensação de fadiga. A inflamação da garganta por mononucleose infecciosa é a resposta do epitélio infectado com EBV e as células B nas amígdalas e na garganta. Crianças produzem resposta imunológica menos ativa contra a infecção por EBV, apresentando, portanto, um quadro de doença muito brando.

Durante a infecção produtiva, os anticorpos desenvolvidos inicialmente são contra os componentes do vírion, VCA e MA, e posteriormente contra EA. Após a resolução da infecção (lise das células infectadas produtivamente), são produzidos anticorpos contra os antígenos nucleares (EBNAs). As células T são essenciais para limitar a proliferação das células B infectadas por EBV e para controlar a doença (Fig. 43-14). O EBV elimina parte da ação protetora das respostas mediadas pelas células T CD4 TH1 durante a infecção produtiva mediante a produção de um análogo da IL-10 (BCRF-1) que inibe a ação protetora de TH1 e também estimula o crescimento de células B.

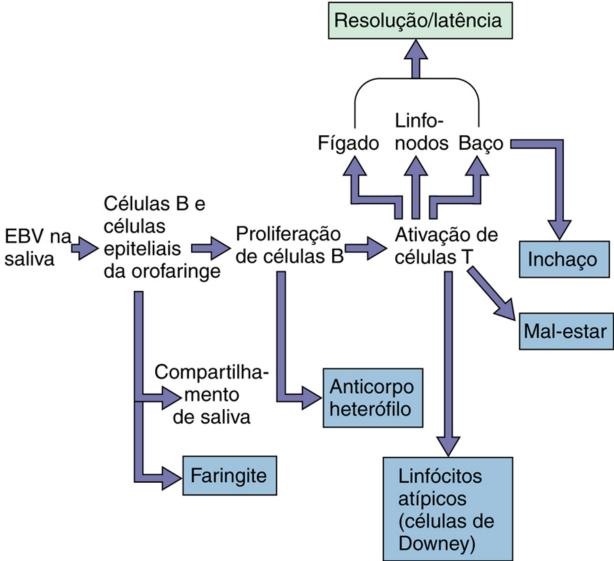


FIGURA 43-14 Patogênese do vírus Epstein-Barr (EBV). O EBV é adquirido por contato próximo entre pessoas por meio da saliva e infecta as células B. A resolução da infecção por EBV e muitos dos sintomas de mononucleose infecciosa resultam da ativação de células T em resposta à infecção.

Ao longo da vida do indivíduo infectado, o vírus persiste em pelo menos uma célula B de memória por mililitro de sangue. O EBV pode ser reativado quando a célula B de memória é ativada (especialmente em amígdalas ou orofaringe), podendo ser liberado na saliva.

Epidemiologia

Pelo menos 70% da população nos Estados Unidos está infectada aos 30 anos de idade. O EBV é transmitido pela saliva (Quadro 43-9). Mais de 90% das pessoas infectadas por EBV liberam intermitentemente o vírus por toda a vida, mesmoquando totalmente assintomáticas. Crianças podem adquirir o vírus em qualquer idade ao compartilhar copos contaminados. *Crianças geralmente apresentam doença subclínica*. A troca de saliva entre adolescentes e adultos jovens ocorre quase sempre durante o beijo; por isso, a mononucleose por EBV ganhou o apelido de "doença do beijo". A doença nessas pessoas pode passar despercebida ou se manifestar em diferentes graus de gravidade.



Quadro 43-9 Epidemiologia do Vírus Epstein-Barr

Doença/Fatores Virais

O vírus causa infecção por toda a vida.

A doença recorrente é causa de contágio.

O vírus pode ser liberado assintomaticamente.

Transmissão

A transmissão ocorre por meio de saliva, contato oral próximo ("doença do beijo") ou compartilhamento de itens como escovas de dentes e copos.

Quem Está sob Risco?

Crianças apresentam doença assintomática ou sintomas leves.

Adolescentes e adultos estão sob risco de mononucleose infecciosa.

Pessoas imunocomprometidas estão em risco alto de doença neoplásica com risco de morte.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

A mononucleose infecciosa apresenta distribuição mundial.

Existe associação causal com o linfoma de Burkitt africano em regiões de malária da África.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Não existem meios de controle.

A distribuição geográfica de algumas neoplasias associadas ao EBV indica possível associação com cofatores. A malária parece ser um cofator na progressão da infecção crônica ou latente por EBV para o AfBL. A restrição do carcinoma nasofaríngeo a pessoas que vivem em certas regiões da China indica uma possível predisposição genética ao câncer ou à presença de cofatores nos alimentos ou no ambiente. Mecanismos mais sutis podem facilitar o papel do EBV em 30% a 50% dos casos de doença de Hodgkin e outros cânceres.

Pessoas que receberam transplante, pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e as geneticamente imunodeficientes estão sob alto risco de apresentar transtornos linfoproliferativos iniciados por EBV. Esses transtornos podem se manifestar como linfomas de células B policionais ou monoclonais. Essas pessoas também estão sob alto risco de infecção produtiva por EBV na forma de **tricoleucoplaquia oral**.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 43-2)

Mononucleose Infecciosa Positiva para Anticorpos Heterófilos

A tríade de sintomas clássicos para a mononucleose infecciosa consiste em **linfadenopatia** (inchaço de linfonodos), **esplenomegalia** (aumento do baço) e **faringite exsudativa** acompanhada de febre alta, mal-estar e, frequentemente, hepatoesplenomegalia (aumento do fígado e baço). Pode ocorrer exantema, em especial após o tratamento com ampicilina (para a dor de garganta). A principal queixa de pessoas com mononucleose infecciosa é a fadiga (Fig. 43-15). A doença raramente é fatal em pessoas saudáveis, mas pode causar complicações sérias resultantes de transtornos neurológicos, obstrução laríngea ou ruptura do baço. Complicações neurológicas incluem meningoencefalite e a síndrome de Guillain-Barré. Síndromes semelhantes à mononucleose também podem ser causadas por CMV, HHV-6, *Toxoplasma gondii* e vírus da imunodeficiência humana (HIV). Quanto ao EBV, a síndrome da mononucleose é decorrente de uma proliferação de células T em resposta à infecção de uma célula apresentadora de antígenos, de uma célula B, de um macrófago ou de uma célula dendrítica, que estimula as células T CD4 e CD8, com peptídeos antigênicos no MHC II e MHC I. Semelhante às infecções ocasionadas por outros herpes-vírus, a infecção por EBV em crianças é muito mais branda que em adolescentes ou adultos. De fato, a infecção em crianças é geralmente subclínica.

Período de incubação de até dois meses

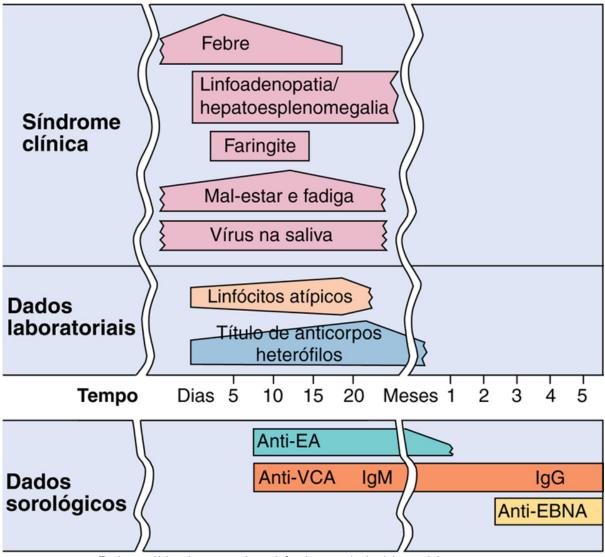


FIGURA 43-15 Evolução clínica da mononucleose infecciosa e achados laboratoriais em pessoas com a infecção. A infecção por vírus Epstein-Barr pode ser assintomática ou produzir os sintomas de mononucleose. O período de incubação pode durar até dois meses. *EA*, Antígeno precoce; *EBNA*, antígeno nuclear codificado por Epstein-Barr; *Ig*, imunoglobulina; *VCA*, antígeno do capsídeo viral.



Caso Clínico 43-2 Vírus Epstein-Barr (EBV) em Um Indivíduo

Imunocomprometido

Purilo e colaboradores (*Ann Intern Med* 101:180-186, 1984) relataram que um menino com doença de Duncan apresentava níveis baixos de imunoglobulina (Ig)A, histórico de sapinho (candidíase) e episódios recorrentes de otite média. Esse portador da doença de Duncan possuía uma imunodeficiência variável, combinada, progressiva e recessiva ligada ao cromossomo X, causada por mutação na proteína SH2D1A, impedindo a comunicação apropriada entre células B e células T. Após exposição ao EBV aos 11 anos de idade, o menino não desenvolveu anticorpos contra o vírus, porém apresentou aumento nos níveis gerais de IgM, e linhagens de células B imortalizadas e positivas para EBNA rapidamente proliferaram no sangue periférico. O estabelecimento de linhagens de células B é um indicativo de controle aberrante de células T da proliferação de células B induzida pelo EBV. Aos 18 anos de idade, ele foi tratado com concentrado de hemácias para aplasia eritrocitária, e nove semanas depois ele desenvolveu mononucleose infecciosa, apresentando febre, linfadenomegalia generalizada, fígado palpável e baço inchado, linfocitose com predominância de linfócitos atípicos e monoteste positivo. Passados outros seis meses, ele estava agamaglobulinêmico, sem células B detectáveis e sofrendo de pneumonia por *Haemophilus influenzae* e *Mycobacterium tuberculosis*. Depois de cinco meses, a presença de células B foi detectada novamente. Os sintomas primários de mononucleose infecciosa aos 18 anos de idade podem ter sido resultado de nova infecção ou de reativação de infecção antiga. Este caso ilustra a natureza incomum do EBV e de outras infecções virais quando a resposta imunológica está comprometida.

Doença Crônica

O EBV pode causar doença cíclica recorrente em algumas pessoas. Esses pacientes apresentam fadiga crônica e podem ter febre baixa, cefaleias e dor de garganta. Esse transtorno é diferente da síndrome de fadiga crônica, cuja etiologia não é conhecida.

Doenças Linfoproliferativas Induzidas pelo Vírus Epstein-Barr

Na infecção por EBV, indivíduos com deficiência de imunidade mediada por células T estão sujeitos a manifestar, com risco de morte, doença proliferativa de células B semelhante à leucemia policional e ao linfoma, em vez de mononucleose infecciosa. Homens com deficiências congênitas na função das células T podem sofrer de doenças linfoproliferativas ligadas ao X, com risco de morte. Defeito genético ligado ao X em um gene de células T (proteína associada SLAM [molécula sinalizadora de ativação de linfócitos]) impede que células T controlem o crescimento de células B durante resposta imune normal contra antígenos ou EBV. Receptores de transplante sob tratamento imunossupressor apresentam alto rico de **doença linfoproliferativa pós-transplante**, em vez de mononucleose infecciosa, após a exposição ao vírus ou à reativação de um vírus latente. Doenças semelhantes são vistas em pacientes com AIDS.

O EBV foi primeiramente associado ao linfoma de Burkitt africano (linfoma endêmico) (AfBL) e depois ao linfoma de Burkitt em outros lugares do mundo, linfoma de Hodgkin e outras doenças linfoproliferativas. O AfBL consiste em um linfoma de células B monoclonais pouco diferenciadas na mandíbula e na face que é endêmico em crianças que vivem em regiões afetadas pela malária na África. A infecção com EBV facilita a sobrevivência das células que sofrem um processo de translocação cromossômica que justapõe o oncogene *c-MYC* a um promotor muito ativo, como o promotor do gene da imunoglobulina [t(8;14), t(8;22), t(8;2)], permitindo o crescimento tumoral. Os tumores de Burkitt contêm sequências de DNA de EBV, mas expressam somente o antígeno viral EBNA-1. Vírions ocasionalmente podem ser vistos em microscopia eletrônica de material infectado. As células tumorais são também relativamente invisíveis ao controle imunológico. A malária pode aumentar o desenvolvimento de AfBL, estimulando a proliferação de células B de memória contendo EBV.

O EBV é ainda associado com **carcinoma nasofaríngeo**, que é endêmico em adultos na Ásia. As células tumorais contêm DNA de EBV, porém, diferentemente do linfoma de Burkitt, no qual as células tumorais derivam de linfócitos, as células tumorais do carcinoma nasofaríngeo são de origem epitelial.

Tricoleucoplaquia Oral

A tricoleucoplaquia oral é uma manifestação incomum de infecção produtiva por EBV de células epiteliais, caracterizada por lesões na língua e na boca. É manifestação oportunista que ocorre em pacientes com AIDS.

Diagnóstico Laboratorial

A mononucleose infecciosa induzida por EBV é diagnosticada com base nos **sintomas** (Quadro 43-10), no achado de linfócitos atípicos e na presença de **linfocitose** (células mononucleares constituindo de 60% a 70% da contagem de leucócitos, com 30% de linfócitos atípicos), **anticorpos heterófilos**, anticorpos contra antígenos virais e DNA viral. O isolamento do vírus não é prático. A análise por PCR e com sonda de DNA para o genoma viral e quantidade de vírus (carga viral) e a identificação de antígenos virais por imunofluorescência são usadas para detectar e acompanhar o curso da infecção.



Quadro 43-10 Diagnóstico do Vírus Epstein-Barr (EBV)

- 1. Sintomas
 - a. Cefaleia leve, fadiga, febre
 - b. Tríade: linfadenopatia, esplenomegalia, faringite exsudativa
 - c. Outros: hepatite, exantema induzido por ampicilina
- 2. Hemograma completo
 - a. Hiperplasia
 - b. Linfócitos atípicos (células de Downey, células T)
- 3. Anticorpos heterófilos (transitórios)
- 4. Anticorpo específico para antígenos do EBV

Linfócitos atípicos são provavelmente a indicação detectável mais precoce de infecção por EBV. Essas células surgem com o início dos sintomas e desaparecem com a resolução da doença.

Anticorpos heterófilos resultam da ativação inespecífica, semelhante a mitógenos, de células B pelo EBV e da produção de amplo repertório de anticorpos. Esses anticorpos incluem o anticorpo IgM heterófilo, que reconhece o antígeno de Paul-Bunnell em eritrócitos de carneiro, cavalo e bovinos, mas não em células de rim de porcos-da-índia. A resposta por anticorpos heterófilos pode geralmente ser detectada ao final da primeira semana de doença e permanece por muitos meses. É excelente indicação de infecção por EBV em adultos, mas não é confiável em crianças. Os testes com células de cavalo (monoteste) e ELISA são rápidos e amplamente utilizados para a detecção de anticorpos heterófilos.

Testes sorológicos para anticorpos contra antígenos virais são métodos mais caros que os anticorpos heterófilos para confirmar o diagnóstico de mononucleose por EBV (Tabela 43-4; Fig. 43-15). A infecção por EBV é indicada por qualquer dos seguintes achados: (1) anticorpos IgM contra o VCA, (2) presença do anticorpo para VCA e ausência do anticorpo contra EBNA ou (3) elevação de anticorpos contra VCA e antígeno precoce. O achado de anticorpos contra VCA e EBNA no soro indica que o indivíduo teve infecção prévia. A geração de anticorpos contra EBNA requer a lise da célula infectada, e geralmente indica o controle da doença ativa por células T.



Tabela 43-4

Perfil Sorológico da Infecção por Vírus Epstein-Barr (EBV)

	Estado Clínico	Anticorpos Heterófilos	Anticorpos Específicos para EBV			s para	Comentário
	do Paciente		VCA- IgM	VCA- IgG	EA	EBNA	
Suscetível	_	-	_	_	_	_	Anticorpos heterófilos presentes precocemente no decurso
Infecção primária aguda	+	+	+	+	±	-	da doença. Anti-VCA e anti-MA presentes durante a doença e Anti-EBNA presente somente durante a convalescência
Infecção primária crônica	-	_	-	+	+	-	
Infecção passada	_	_	_	+	-	+	
Reativação de infecção	_	_	_	+	+	+	
Linfoma de Burkitt	_	-	_	+	+	+	
Carcinoma nasofaríngeo	_	_	-	+	+	+	

Modificada de Balows A, Hausler WJ, Lennette EH, editors: Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practices, New York, 1988, Springer-Verlag.

EA, antígeno precoce; EBNA, antígeno nuclear de Epstein-Barr, IgG, imunoglobulina G; IgM, imunoglobulina M; VCA, antígeno do capsídeo viral.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não há tratamento efetivo ou vacina disponível contra as doenças por EBV (Quadro 43-5). A natureza ubíqua do vírus e o potencial de liberação assintomática tornam difícil o controle da infecção. Entretanto, a infecção promove imunidade por toda a vida. A melhor maneira de se prevenir da mononucleose infecciosa é a exposição ao vírus na infância, porque a doença é mais benigna em crianças.

Citomegalovírus

CMV é um patógeno humano comum que infecta aproximadamente 1% de todos os neonatos e pelo menos 50% a 80% dos adultos por volta dos 40 anos de idade. É a causa viral mais comum de **anomalias congênitas**. Embora, em geral, cause doença branda ou assintomática em crianças e adultos, o CMV é particularmente importante como um **patógeno oportunista em pacientes imunocomprometidos**.

Estrutura e Replicação

O CMV é um membro da subfamília Betaherpesvirinae. Apresenta o maior genoma entre os herpes-vírus humanos. Em contraste com a definição tradicional de vírus, que afirma que uma partícula viral contém DNA ou RNA, o CMV transporta RNAms específicos na partícula de vírion, inserindo-os na célula, para facilitar a infecção. O CMV humano só se replica em células humanas. Fibroblastos, células epiteliais, granulócitos, macrófagos e outras células permitem a replicação do CMV. A replicação do vírus é muito mais lenta do que a do HSV, e o ECP pode não ser visualizado por 7-14 dias. Isso pode facilitar o estabelecimento de infecção latente em células-tronco mieloides, monócitos, linfócitos, células do estroma da medula óssea ou outras células.

Patogênese e Imunidade

A patogênese do CMV é semelhante à de outros herpes-vírus em muitos aspectos (Quadro 43-11). O CMV é um excelente parasita e estabelece rapidamente infecções persistentes e latentes, em vez de extensa infecção lítica. O CMV é altamente associado a células, sendo disseminado pelo corpo dentro de células infectadas, em especial linfócitos e leucócitos. O vírus é reativado por imunossupressão (p. ex., corticosteroides, infecção por HIV) e possivelmente por estimulação alogênica (i. e., resposta do hospedeiro contra células transfundidas ou transplantadas).



Quadro 43-11 Mecanismos Patológicos do Citomegalovírus (CMV)

- O CMV é adquirido do sangue, dos tecidos e da maioria das secreções corporais.
- O CMV causa infecção produtiva de células epiteliais e de outras células.
- O CMV estabelece latência em células T, macrófagos e outras células.
- A imunidade celular é necessária para a resolução da doença e manutenção da latência, e contribui para os sintomas.
- O papel dos anticorpos é limitado.
- A supressão da imunidade celular permite a recorrência e doença grave.
- O CMV geralmente causa infecção subclínica.

A imunidade celular é essencial para resolução e controle do desenvolvimento da infecção por CMV. No entanto, o CMV é um especialista em evasão imunológica e apresenta diversos mecanismos de evasão das respostas inatas e adaptativas. O vírus evita a apresentação de antígenos para as células T CD8 citotóxicas e T CD4 por impedir a expressão de moléculas do MHC I na superfície celular e por interferir na expressão, induzida por citocinas, de moléculas do MHC II em células apresentadoras de antígenos (incluindo as células infectadas). Uma proteína viral também bloqueia o ataque, pelas células NK, a células infectadas por CMV. Semelhante ao EBV, o CMV também codifica um análogo da IL-10 que inibe respostas imunes protetoras de TH1.

O CMV é um passageiro comum em muitas crianças e adultos e pode reativar-se ao longo de toda a vida, de forma a provocar respostas imunes transitórias e estados inflamatórios e influenciar a saúde do indivíduo. O CMV tem sido implicado como um cofator para a ocorrência de meduloblastoma, leucemia e outras doenças (Caso Clínico 43-3).



Caso Clínico 43-3 Papel do Citomegalovírus no Meduloblastoma

O citomegalovírus (CMV) está presente em uma grande porcentagem de meduloblastomas, o tumor cerebral maligno mais comum em crianças. Em um estudo sobre esses tumores por Baryawno e colaboradores (*J Clin Invest* 121:4043–4055, 2011), o CMV induziu inflamação e promoveu a produção de interleucina 6, fator de crescimento endotelial vascular e prostaglandina E₂, que promoveram o crescimento das células do meduloblastoma. O tratamento com ganciclovir e um fármaco anti-inflamatório não esteroide cessou o crescimento destas células.

Epidemiologia e Síndromes Clínicas

Na maioria dos casos, o CMV se replica e é liberado sem causar sintomas (Tabela 43-5). Ativação e replicação do CMV no rim e em glândulas secretórias promovem sua liberação na urina e nas secreções corporais. O CMV pode ser isolado a partir de urina, sangue, material de garganta, saliva, lágrimas, leite materno, sêmen, fezes, líquido amniótico, secreções vaginal e cervical e tecidos obtidos para transplante (Quadro 43-12 e Tabela 43-6). O vírus pode ser transmitido para outros indivíduos por meio de transfusões sanguíneas e transplantes de órgãos. As vias congênita, oral e sexual, a transfusão sanguínea e o transplante de tecidos são os principais meios de transmissão de CMV. A doença por CMV é uma doença oportunista, raramente causando sintomas no hospedeiro imunocompetente, mas provocando doença grave em pessoas imunossuprimidas ou imunodeficientes, como pacientes com AIDS ou neonatos (Fig. 43-16).



Tabela 43-5

Fontes de Infecção por Citomegalovírus

Grupo Etário	Fonte
Neonato	Transmissão transplacentária, infecções intrauterinas, secreções cervicais
Bebê ou criança	Secreções corporais: leite materno, saliva, lágrimas, urina
Adulto	Transmissão sexual (sêmen), transfusão sanguínea, enxerto de órgão

Doença/Fatores Virais

O vírus causa infecção por toda a vida.

A doença recorrente é fonte de contágio.

O vírus é liberado assintomaticamente.

Transmissão

A transmissão ocorre através do sangue, de transplante de órgãos e de todas as secreções corporais (urina, saliva, sêmen, secreções cervicais, leite materno e lágrimas).

O vírus é transmitido oralmente e sexualmente, em transfusões sanguíneas, em transplante de tecidos, no útero, no nascimento e na amamentação.

Quem Está sob Risco?

Bebês

Bebês de mães que apresentaram soroconversão durante a gravidez estão sob alto risco de defeitos congênitos

Pessoas sexualmente ativas

Receptores de sangue e órgãos

Vítimas de queimaduras

Pessoas imunocomprometidas: doença sintomática e recorrente

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Fármacos antivirais estão disponíveis para manifestações clínicas graves.

Triagem de potenciais doadores de sangue e órgãos para citomegalovírus reduz a transmissão do vírus.



Tabela 43-6

Síndromes por Citomegalovírus

Tecido	Crianças/Adultos	Pacientes Imunossuprimidos
Apresentação predominante	Assintomática	Doença disseminada, doença grave
Olhos	-	Coriorretinite
Pulmões	_	Pneumonia, pneumonite
Trato gastrointestinal	_	Esofagite, colite
Sistema nervoso	Polineurite, mielite	Meningite e encefalite, mielite
Sistema linfático	Síndrome de mononucleose, síndrome pós-transfusão	Leucopenia, linfocitose
Órgãos principais	Cardite,* hepatite*	Hepatite
Neonatos	Surdez, calcificação intracerebral, microcefalia, retardo mental	_

^{*} Complicação de mononucleose ou síndrome pós-transfusão.

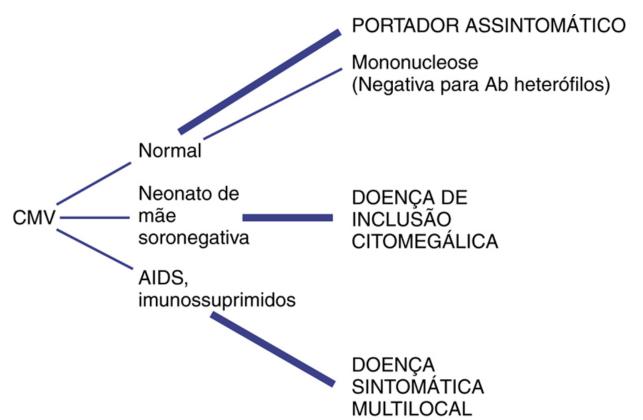


FIGURA 43-16 Desfechos de infecções por citomegalovírus *(CMV)*. O resultado de uma infecção por CMV depende principalmente do estado imune do paciente. *Ab*, Anticorpo; *AIDS*, síndrome da imunodeficiência adquirida.

Infecção Congênita

CMV é a causa viral mais prevalente de doenças congênitas. Aproximadamente 15% dos bebês natimortos estão infectados com CMV. Quase 1% de todos os neonatos nos Estados Unidos são infectados por CMV antes do nascimento, e grande porcentagem de bebês é infectada nos primeiros meses de vida. Destes, 80% poderão ser portadores do vírus durante longos períodos mas permanecerão assintomáticos, e 0.1% apresentarão patologias relacionadas com o CMV, de forma permanente. Os sinais da doença incluem baixo peso, trombocitopenia, microcefalia, calcificação intracerebral, icterícia, hepatoesplenomegalia e exantema (doença de inclusão citomegálíca). Perda da visão ou da audição e retardo mental são consequências comuns da infecção congênita por CMV. O risco de anomalias graves ao nascimento é extremamente alto para bebês de mães que sofreram infecções primárias por CMV durante a gravidez.

Os fetos são infectados pelo vírus através do sangue materno (infecção primária) ou pela ascensão do vírus a partir do colo uterino (após recorrência). Os sintomas de infecção congênita podem ser menos graves ou prevenidos pela resposta imune de uma mãe soropositiva. A infecção congênita por CMV é mais bem identificada pelo isolamento do vírus a partir da urina do bebê na primeira semana de vida.

Infecção Perinatal

Nos Estados Unidos, cerca de 60% das mulheres grávidas estão infectadas com CMV no momento do parto, podendo apresentar reativação do vírus durante a gestação. Aproximadamente metade dos neonatos nascidos de uma mãe infectada adquire infecção por CMV e passa a excretar o vírus após 3-4 semanas de idade. Os neonatos também podem adquirir o CMV a partir do leite materno ou do colostro. A infecção perinatal não causa doença clinicamente evidente em bebês saudáveis nascidos a termo. Infecção clínica significativa pode ocorrer em bebês prematuros que adquirem CMV a partir de sangue transfundido, geralmente resultando em pneumonia e hepatite.

Infecção em Crianças e Adultos

Aproximadamente 40% dos adolescentes estão infectados com CMV, mas esse número aumenta para 70% a 85% em adultos de 40 anos de idade nos Estados Unidos. O CMV é mais prevalente entre pessoas de baixo nível socioeconômico que vivem em ambientes domésticos superpovoados e em pessoas de países em desenvolvimento. O CMV é uma **doença sexualmente transmissível**, e 90% a 100% dos pacientes de clínicas de doenças sexualmente transmissíveis estão infectados. O título de CMV no sêmen é o maior entre todas as secreções corporais.

Embora a maioria das infecções por CMV adquiridas no início da vida adulta seja assintomática, os pacientes podem apresentar uma síndrome de mononucleose negativa para anticorpos heterófilos. Os sintomas de doença por CMV são semelhantes àqueles da infecção por EBV, mas com faringite e linfadenopatia mais brandas (Fig. 43-16). Embora a presença de células infectadas por CMV promova supercrescimento de células T (linfocitose atípica) semelhante àquele visto na infecção por EBV, anticorpos heterófilos não estão presentes. Dado que o CMV não infecta a célula B, nem causa a

estimulação ou ativação da célula B, não há anticorpos heterófilos. Deve-se suspeitar de doença por CMV em pacientes com mononucleose negativa para anticorpos heterófilos ou naqueles em que haja sinais de hepatite, mas com testes negativos para hepatites A, B e C.

Transmissão por Transfusão e Transplante

A transmissão de CMV pelo sangue resulta, muito frequentemente, em infecção assintomática; se estiverem presentes, os sintomas se assemelham tipicamente aos da mononucleose. Febre, esplenomegalia e linfocitose atípica geralmente iniciamse 3-5 semanas após a transfusão. Pneumonia e hepatite branda também podem ocorrer. O CMV pode ainda ser transmitido por transplante de órgãos (p. ex., rim, medula óssea), e a infecção por CMV é quase sempre reativada em receptores de transplante durante períodos de intensa imunossupressão.

Infecção no Hospedeiro Imunocomprometido

O CMV é um importante agente infeccioso oportunista. Em indivíduos imunocomprometidos, o vírus causa doença sintomática primária ou recorrente (Tabela 43-6).

As doenças pulmonares por CMV (pneumonia e pneumonite) ocorrem comumente em pacientes imunossuprimidos e podem ser fatais se não tratadas. O CMV causa, com frequência, retinite, colite ou esofagite em pacientes gravemente imunodeficientes (p. ex., pacientes com AIDS). Pneumonia intersticial e encefalite também podem ser causadas por CMV, mas são difíceis de distinguir das infecções provocadas por outros agentes oportunistas. A esofagite por CMV pode imitar a esofagite por Candida. Menor porcentagem de pacientes imunocomprometidos pode apresentar infecção por CMV do trato gastrointestinal. Pacientes com colite por CMV geralmente apresentam diarreia, perda de peso, anorexia e febre. Terapias anti-HIV eficazes têm reduzido a incidência dessas doenças.

O CMV também é responsável pela **falência de muitos transplantes renais**. Isto pode ocorrer em consequência da replicação do vírus no enxerto após a reativação no rim transplantado ou pela infecção a partir do hospedeiro.

Diagnóstico Laboratorial

Histologia

A marca histológica característica da infecção por CMV é a **célula citomegálica**, que consiste em uma **célula aumentada** (25 a 35 mm em diâmetro) contendo um denso **"olho de coruja" central**, que é um **corpo de inclusão intranuclear basofílico** (Fig. 43-17 e Tabela 43-7). Essas células infectadas podem ser encontradas em qualquer tecido do corpo e na urina, sendo provavelmente de origem epitelial. As inclusões são facilmente vistas à coloração de Papanicolaou ou hematoxilina-eosina.

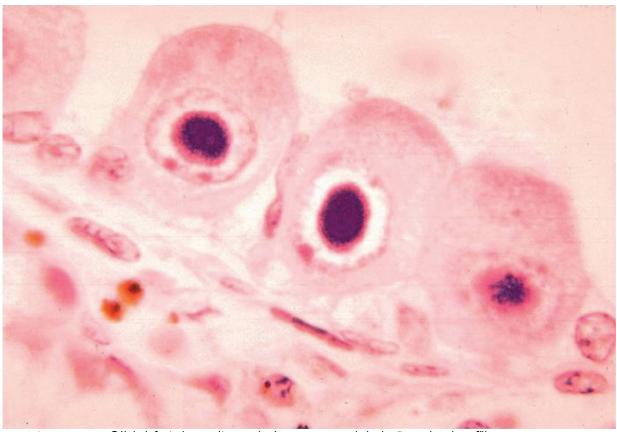


FIGURA 43-17 Célula infectada por citomegalovírus com corpo de inclusão nuclear basofílico.



Testes Laboratoriais para o Diagnóstico de Infecção por Citomegalovírus

Teste	Achado
Citologia e histologia*	Corpos de inclusão nuclear basofílicos em "olho de coruja" Detecção de antígeno
	Hibridização por sonda de DNA in situ
	PCR (mais rápido)
Cultura de células	Efeito citológico em fibroblastos diploides humanos (lento)
	Detecção por imunofluorescência de antígenos precoces (mais rápido)
	PCR (mais rápido)
Sorologia	Infecção primária

PCR, Reação em cadeia da polimerase.

Detecção de Genomas e Antígenos

Um diagnóstico rápido e sensível pode ser obtido pela detecção de antígenos virais, utilizando imunofluorescência ou ELISA, ou de genoma viral, utilizando PCR e técnicas relacionadas em células de biópsia, sangue, lavado broncoalveolar ou amostra de urina (Cap. 5, Fig. 5-3).

Cultura

O CMV cresce em culturas de células de fibroblastos diploides e, normalmente, deve ser mantido por 4-6 semanas, porque os ECPs característicos se desenvolvem muito lentamente em amostras com títulos muito baixos do vírus. O isolamento do CMV é especialmente confiável em pacientes imunocomprometidos, que quase sempre apresentam altos títulos do vírus em suas secreções. Por exemplo, no sêmen de pacientes com AIDS, os títulos de vírus viáveis podem ser maiores que 10⁶.

Resultados mais rápidos são conseguidos por meio da centrifugação da amostra de um paciente sobre células crescidas em uma lamínula dentro de um tubo de ensaio (*shell vial*). As amostras são examinadas após 1-2 dias de incubação por imunofluorescência indireta, pesquisando-se a presença de um ou mais antígenos virais precoces imediatos.

Sorologia

A soroconversão é geralmente um excelente marcador da infecção primária por CMV. Os títulos de anticorpos IgM específicos para CMV podem ser muito altos em pacientes com AIDS. Entretanto, esses anticorpos podem também se desenvolver durante a reativação do CMV, não sendo, portanto, indicadores confiáveis de infecção primária.

Tratamento, Prevenção e Controle

Ganciclovir (di-hidroxipropoximetil guanina), valganciclovir (valil éster de ganciclovir), cidofovir e foscarnet (ácido fosfonofórmico) foram aprovados pela FDA para o tratamento de doenças específicas resultantes de infecção por CMV em pacientes imunossuprimidos (Quadro 43-5). O ganciclovir é estruturalmente semelhante ao ACV; é fosforilado e ativado por uma proteína quinase codificada pelo CMV, inibe a DNA polimerase viral e causa a terminação da cadeia do DNA (Cap. 40). O ganciclovir é mais tóxico que o ACV. O ganciclovir pode ser usado para tratar infecções graves por CMV em pacientes imunocomprometidos. Valganciclovir é um pró-fármaco de ganciclovir que pode ser administrado oralmente, converte-se em ganciclovir no fígado e apresenta melhor biodisponibilidade que o ganciclovir. Cidofovir é um análogo do nucleosídeo citidina fosforilado que não requer enzimas virais para a ativação. Foscarnet é uma molécula simples que inibe a DNA polimerase viral por imitar a porção pirofosfato de trifosfatos de nucleotídeos.

O CMV dissemina-se principalmente pela via sexual, pelo transplante de tecidos e por transfusões; a disseminação por esses meios pode ser prevenida. O sêmen é um importante vetor para a disseminação sexual do CMV, em contatos heterossexuais e homossexuais. O uso de preservativos ou a abstinência limitaria a disseminação viral. A transmissão do vírus também pode ser reduzida por meio da triagem de potenciais doadores de sangue e de órgãos para soronegatividade do CMV. A triagem é especialmente importante entre doadores de sangue quando este é transfundido em bebês. Embora a transmissão congênita e a perinatal do CMV não possam ser efetivamente evitadas, uma mãe soropositiva apresenta chances menores de gerar um bebê com doença sintomática por CMV. Não há vacina disponível contra CMV.

Herpes-vírus Humanos 6 e 7

As duas variantes de HHV-6, HHV-6A e HHV-6B, e HHV-7 são membros do gênero *Roseolovirus* da subfamília Betaherpesvirinae. O HHV-6 foi inicialmente isolado do sangue de pacientes com AIDS e cultivado em culturas de células

^{*} Amostras coletadas para análise incluem urina, saliva, sangue, lavado broncoalveolar e biópsia de tecido.

T. Foi identificado como um herpes-vírus em razão de sua morfologia característica nas células infectadas. Similarmente ao CMV, o HHV-6 é linfotrópico e ubíquo. Pelo menos 45% da população é soropositiva para HHV-6 aos dois anos de idade, e quase 100% na vida adulta. Em 1988, o HHV-6 foi sorologicamente associado a doença comum em crianças, o **exantema súbito**, conhecido comumente como **roséola**. O HHV-7 foi isolado de maneira semelhante a partir de células T de um paciente com AIDS que também estava infectado por HHV-6, e posteriormente se demonstrou que também causava exantema súbito.

Patogênese e Imunidade

A infecção por HHV-6 ocorre muito cedo na vida. O vírus se replica na glândula salivar, é liberado e transmitido na saliva. O HHV-6 infecta principalmente linfócitos, em particular células T CD4. O HHV-6 estabelece infecção latente em células T e monócitos, mas pode se replicar com a ativação dessas células. As células nas quais o vírus está se replicando apresentam-se aumentadas e refratárias, com corpos de inclusão intranucleares e intracitoplasmáticos ocasionais. Semelhantemente ao CMV, a replicação do HHV-6 é controlada pela imunidade celular. Assim, o vírus é ativado em pacientes com AIDS ou outros transtornos linfoproliferativos e imunossupressores, causando doença oportunista.

Síndromes Clínicas (Quadro 43-13)

Exantema súbito, ou roséola, é causado por HHV-6B ou HHV-7, sendo um dos cinco exantemas clássicos da infância previamente mencionados (Fig. 43-18). É caracterizado pelo início rápido de febre alta com duração de poucos dias, seguida por exantema no tronco ou na face, o qual se dissemina e se mantém por apenas 24-48 horas. A presença de células T infectadas ou a ativação de células T de hipersensibilidade tardia na pele pode ser a causa do exantema. A doença é controlada e curada efetivamente pela imunidade celular, mas o vírus estabelece infecção latente vitalícia das células T. Embora geralmente benigno, o HHV-6 é a causa mais comum de ataques febris na infância (6-24 meses de idade).



FIGURA 43-18 Evolução temporal dos sintomas do exantema súbito (roséola) causado pelo herpes-vírus 6 humano (*HHV-6*). Comparem-se estes sintomas e sua evolução temporal com os do eritema infeccioso, que é causado pelo parvovírus B19 (Cap. 45).



Vírus do Herpes Simples (HSV)

Herpes oral primário: Um menino de cinco anos de idade apresenta exantema ulcerativo com vesículas em torno da boca. Vesículas e úlceras também estão presentes dentro da boca. O resultado de um esfregaço de Tzanck demonstra células gigantes multinucleadas (sincícios) e corpúsculos de inclusão do tipo Cowdry A. As lesões regridem após 18 dias.

HSV oral recorrente: Um estudante de medicina de 22 anos de idade, estudando para as provas, sente dor localizada na borda labial e 24 horas depois apresenta lesão vesicular única no local.

HSV genital recorrente: Uma mulher de 32 anos de idade, sexualmente ativa, manifesta recorrência de lesões vaginais ulcerativas, com dor, prurido, disúria e sintomas sistêmicos 48 horas após ter sido exposta à luz UVB enquanto esquiava. As lesões regridem em oito dias. Os resultados de um esfregaço de Papanicolaou mostraram células gigantes multinucleadas (sincícios) e corpos de inclusão do tipo Cowdry A.

Encefalite por HSV: Um paciente apresenta sintomas neurológicos focais e convulsões. As imagens por ressonância magnética demonstram a destruição de um lobo temporal. Há eritrócitos no líquido cefalorraquidiano e a reação em cadeia da polimerase é positiva para DNA viral.

Vírus Varicela-zóster

Varicela (catapora): Um menino de cinco anos de idade desenvolve febre e exantema maculopapular no abdome, 14 dias após encontrar-se com seu primo, que também desenvolveu o exantema. Estágios sucessivos de lesões apareceram durante 3-5 dias, com o exantema disseminando-se perifericamente.

Zóster (cobreiro): Uma mulher de 65 anos de idade apresenta um cinturão de vesículas ao longo de um dermátomo torácico e sente dor intensa localizada nessa região.

Vírus Epstein-Barr

Mononucleose infecciosa: Um estudante universitário de 23 anos de idade desenvolve mal-estar, fadiga, febre, glândulas inchadas e faringite. Após o tratamento empírico com ampicilina para a faringite, surge um exantema. Anticorpos heterófilos e linfócitos atípicos foram detectados no sangue.

Citomegalovírus (CMV)

Doença congênita por CMV: Um neonato apresenta microcefalia, hepatoesplenomegalia e exantema. Calcificação intracerebral é identificada pela radiografia. A mãe teve sintomas semelhantes à mononucleose durante o terceiro trimestre da gravidez.

Herpes-vírus Humano 6

Roséola (exantema súbito): Uma criança de quatro anos de idade desenvolve febre alta de início rápido que dura três dias e repentinamente retorna ao normal. Dois dias depois, um exantema maculopapular aparece no tronco, disseminando-se para outras partes do corpo.

O HHV-6 pode também provocar síndrome de mononucleose e linfadenopatia em adultos e pode ser um cofator na patogênese da AIDS. De modo similar ao que ocorre com o CMV, o HHV-6 pode ser reativado em pacientes transplantados e contribuir para a falha do enxerto. O HHV-6 também tem sido associado a esclerose múltipla e síndrome da fadiga crônica.

Em aproximadamente 1% dos indivíduos nos Estados Unidos e no Reino Unido, o HHV-6 está integrado nos telômeros de cada cromossomo e pode ser geneticamente transmitido aos descendentes. O vírus pode ser reativado por determinados fármacos (incluindo antibióticos e esteroides), pode produzir vírus e pode causar fadiga, disfunção cognitiva e outros problemas.

Outros Herpes-vírus Humanos

Herpes-vírus Humano 8 (Herpes-vírus Associado a Sarcoma de Kaposi)

Sequências de DNA de **HHV-8** foram descobertas em amostras de biópsia do **sarcoma de Kaposi**, **linfoma de efusão primária** (um tipo raro de linfoma de células B) **e doença multicêntrica de Castleman** pela análise por PCR. O sarcoma de Kaposi é uma das doenças oportunistas características associadas à AIDS. A análise de sequência do genoma demonstrou que o vírus era um membro singular da subfamília Gammaherpesvirinae. Semelhantemente ao EBV, a célula B é a célula-alvo primária para HHV-8, mas o vírus também infecta um número limitado de células endoteliais, monócitos, células epiteliais e nervosas sensitivas. Dentro dos tumores do sarcoma de Kaposi, células fusiformes endoteliais contêm o vírus.

O HHV-8 codifica diversas proteínas que se assemelham a proteínas humanas e promovem o crescimento e impedem a apoptose das células infectadas e das circundantes. Essas proteínas incluem um homólogo da IL-6 (crescimento e antiapoptose), um análogo de Bcl-2 (antiapoptose), quimiocinas e um receptor de quimiocinas. Essas proteínas podem promover o crescimento e o desenvolvimento de células policionais do sarcoma de Kaposi em pacientes com AIDS e outros. Cerca de 10% das pessoas imunocompetentes apresentam DNA do HHV-8 associado a linfócitos do sangue periférico, sobretudo células B. O HHV-8 é mais prevalente em certas áreas geográficas (Itália, Grécia, África) e em pacientes com AIDS. O sarcoma de Kaposi é o câncer mais comum na África subsaariana. O vírus é transmitido principalmente pela via sexual, mas pode ser disseminado por outros meios.

Herpes-vírus simiae (vírus B) (subfamília Alphaherpesvirinae, o homólogo símio do HSV) é nativo de macacos asiáticos. O vírus é transmitido para humanos por mordidas de macaco ou saliva, ou mesmo por tecidos e células amplamente usados em laboratórios de virologia. Uma vez infectado, um humano pode apresentar dor, rubor localizado e vesículas no ponto de entrada do vírus. Desenvolve-se encefalopatia que é quase sempre fatal; a maioria das pessoas que sobrevivem apresenta lesões cerebrais graves. PCR e testes sorológicos podem ser usados para estabelecer o diagnóstico de infecção pelo vírus B. O isolamento viral requer instalações especiais.

Referências Bibliográficas

Boshoff C, Weiss RA. Kaposi sarcoma herpesvirus: new perspectives. Curr Top Microbiol Immunol. New York: Springer-Verlag; 2007.

Cann AJ. Principles of molecular virology. San Diego: Academic; 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 3 Oxford: Oxford University Press; 2006.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious diseases. ed 3 Philadelphia: WB Saunders; 2004.

Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Fields virology. ed 5 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. ed 6 Philadelphia: Churchill Livingstone; 2004.

McGeoch DJ. The genomes of the human herpesviruses: contents, relationships, and evolution. Annu Rev Microbiol. 1989;43:235–265.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Strauss JH, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

White DO, Fenner FJ. Medical virology. ed 4 New York: Academic; 1994.

Vírus do Herpes Simples

Animations of steps of HSV infection and replication (website): www.dbc.uci.edu/~faculty/wagner/movieindex.html. Acessado em 14 de maio de 2012.

Arbesfeld DM, Thomas I. Cutaneous herpes simplex infections. Am Fam Physician. 1991;43:1655-1664.

Arduino PG, Porter SR. Herpes simplex virus type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. *J Oral Pathol Med*. 2008;37:107–121.

Beauman JG. Genital herpes: a review. Am Fam Physician. 2005;72:1527–1534.

Cunningham AL, Diefenbach RJ, Miranda-Saksena M, et al. The cycle of human herpes simplex virus infection: virus transport and immune control. *J Infect Dis*. 2006;194(S1):S11–S18.

Dawkins BJ. Genital herpes simplex infections. Prim Care. 1990;17:95–113.

Kimberlin DW. Neonatal herpes simplex virus infection. Clin Microbiol Rev. 2004;17:1-13.

Landy HJ, Grossman JH. Herpes simplex virus. Obstet Gynecol Clin North Am. 1989;16:495–515.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases: Genital herpes

(website). www.niaid.nih.gov/topics/genitalherpes/Pages/default.aspx. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Rouse BT. Herpes simplex virus: pathogenesis, immunobiology and control. Curr Top Microbiol Immunol. Berlin, New York: Springer-Verlag; 1992.

Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex virus: state of the art clinical article. Clin Infect Dis. 1998;26:541–555.

Vírus Varicela-zóster

Abendroth A, et al. Varicella-zoster virus infections. Curr Top Microbiol Immunol. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2010.

Chia-Chi Ku V, Besser J, Abendroth A. Varicella-zoster virus pathogenesis and immunobiology: new concepts emerging from investigations with the SCIDhu mouse model. *J Virol.* 2005;79:2651–2658.

Gnann JW, Whitley RJ. Herpes zoster. N Engl J Med. 2002;347:340-346.

Ostrove JM. Molecular biology of varicella zoster virus. Adv Virus Res. 1990;38:45-98.

White CJ. Varicella-zoster virus vaccine. Clin Infect Dis. 1997;24:753-761: quiz 762-763.

Vírus Epstein-Barr

Basgoz N, Preiksaitis JK. Post-transplant lymphoproliferative disorder. Infect Dis Clin North Am. 1995;9:901–923.

Cohen JI. The biology of Epstein-Barr virus: lessons learned from the virus and the host. Curr Opin Immunol. 1999;11:365–370.

Faulkner GC, Krajewski AS, Crawford DH. The ins and outs of EBV infection. Trends Microbiol. 2000;8:185-189.

Hutt-Fletcher L. Epstein Barr virus entry. J Virol. 2007;81:7825–7832.

Sugden B. EBV's open sesame. Trends Biochem Sci. 1992;17:239-240.

Takada K. Epstein-Barr virus and human cancer. Curr Top Microbiol Immunol. New York: Springer-Verlag; 2001.

Thorley-Lawson DA. Epstein-Barr virus and the B cell: that's all it takes. Trends Microbiol. 1996;4:204-208.

Thorley-Lawson DA, Babcock GJ. A model for persistent infection with Epstein-Barr virus: the stealth virus of human B cells. *Life Sci.* 1999;65:1433–1453.

Citomegalovírus e Herpes-vírus Humanos 6, 7, e 8

Bigoni B, Dolcetti R, de Lellis L, et al. Human herpesvirus 8 is present in the lymphoid system of healthy persons and can reactivate in the course of AIDS. *J Infect Dis.* 1996;173:542–549.

Campadelli-Fiume G, Mirandoa P, Menotti L. Human herpesvirus 6: an emerging pathogen. *Emerg Infect Dis*. 1999;5:353–366: Website: www.cdc.gov/ncidod/eid/vol5no3/campadelli. Acessado em 14 de maio de 2012.

CDC home page on CMV (website): www.cdc.gov/cmv/index.html. Acessado em 7 de agosto de 2015.

De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:217–245.

Edelman DC. Human herpesvirus 8—a novel human pathogen. Virol J. 2005;2:78–110.

Flamand L, Komaroff AL, Arbuckle JH, et al. Review, part 1: human herpesvirus-6—basic biology, diagnostic testing, and antiviral efficacy. *J Med Virol*. 2010;82:1560–1568.

Gnann JW, Pellett PE, Jaffe HW. Human herpesvirus 8 and Kaposi sarcoma in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 2000;30:S72–S76.

HHV-6 Foundation (website): http://hhv-6foundation.org/. Acessado em 20 de março de 2014.

Integrated HHV-6 (website): http://hhv-6foundation.org/wp-content/uploads/2011/12/Pellett-2011-CIHHV-6-Q-A.pdf. Acessado em 20 de março de 2014.

McDougall JK. Cytomegalovirus. Curr Top Microbiol Immunol. Berlin, New York: Springer-Verlag; 1990.

Pellet PE, Black JB, Yamamoto Y. Human herpesvirus 6: the virus and the search for its role as a human pathogen. *Adv Virus Res.* 1992;41:1–52.

Plachter B, Sinzger C, Jahn G. Cell types involved in replication and distribution of human cytomegalovirus. *Adv Virus Res.* 1996;46:197–264.

Proceedings of a conference on pathogenesis of cytomegalovirus diseases, April 5-7, 1990, Irvine, California, Transplant Proc 23(Suppl 3): 1-182, 1991.

Salvaggio MR: Human herpesvirus type 6 (website). www.emedicine.com/MED/topic1035.htm. Acessado em 7 de agosto de 2015.

Shenk TE, Stinski MF. Human cytomegalovirus. New York: Springer-Verlag; 2008.

 $Stoeckle\ MY.\ The\ spectrum\ of\ human\ herpesvirus\ 6\ infection:\ from\ rose ola\ infantum\ to\ adult\ disease.\ \textit{Annu\ Rev}\ \textit{Med.}\ 2000; 51:423-430.$

Wyatt LS, Frenkel N. Human herpesvirus 7 is a constitutive inhabitant of adult human saliva. J Virol. 1992;66:3206–3209.

Yamanishi K, Okuno T, Shiraki K, et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthema subitum. *Lancet*. 1988;1:1065–1067.

CAPÍTULO 44

Poxvírus

Um pastor de cabras tem grande lesão vesicular no dedo indicador.

- 1. De que forma o vírus orf, que está infectando este indivíduo, se assemelha à varíola?
- 2. Qual foi a fonte e como foi adquirido?
- 3. Como a replicação desse vírus difere da de outros vírus de DNA?
- 4. Por que foi possível erradicar o vírus da varíola do tipo selvagem?

Uma mulher de 57 anos com artrite reumatoide e tratada com um antagonista do fator de necrose tumoral apresentou um grande número de pápulas umbilicadas na pele da parte superior das coxas.

- 5. Como o vírus molusco contagioso se assemelha a e difere de outros poxvírus?
- 6. Qual era a fonte, e como foi adquirida a doença?
- 7. Que outras condições aumentam a suscetibilidade à infecção e a sua manifestação?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Poxvírus

Palavras-gatilho

Molusco, varíola, zoonose, vacina davacínia, replicação citoplasmática

Biologia, Virulência e Doença

- Genoma de DNA linear muito grande, envelopado, com morfologia complexa, fundido nas suas terminações, o vírus codifica RNA polimerase DNA-dependente e DNA polimerase DNA-dependente
- Imunidade mediada por células essencial para o controle
- O molusco contagioso estimula o crescimento celular causando crescimento com aparência de verruga; infecta apenas o ser humano
- Varíola: lítica, infecta apenas o ser humano, as vesículas aparecem todas de uma vez, agente de bioterrorismo
- Vacínia, orf: vírus líticos, zoonóticos

Epidemiologia

• Varíola transmitida por aerossóis, contato direto. Todos os outros, apenas por contato.

Diagnóstico

Análise do genoma por PCR do fluido da lesão

Tratamento, Prevenção e Controle

- Vírus da vacínia como vacina contra a varíola
- Quarentena

Os poxvírus incluem os vírus humanos da **varíola** (*smallpox*) (gênero *Orthopoxvirus*) e do **molusco contagioso** (gênero *Molluscipoxvirus*), bem como alguns vírus que normalmente infectam animais, mas que também podem causar infecções incidentais nos seres humanos (**zoonoses**). Muitos desses vírus compartilham determinantes antigênicos com o vírus da varíola, permitindo a utilização de um poxvírus animal para uma vacina humana.

Na Inglaterra do século XVIII, a varíola foi responsável por 7% a 12% de todos os óbitos e pela morte de um terço das crianças. No entanto, o desenvolvimento da primeira vacina viva em 1796 e a sua posterior distribuição mundial resultaram na erradicação da varíola por volta de 1980. Como consequência, os estoques de referência do vírus da varíola em dois laboratórios da Organização Mundial da Saúde (OMS) foram destruídos em 1996, depois de um acordo internacional para que isso fosse feito. Infelizmente, a varíola não desapareceu. Estoques do vírus ainda existem nos Estados Unidos e na Rússia. Enquanto o mundo eliminava com sucesso a varíola natural, a ex-União das Repúblicas Socialistas Soviéticas

(URSS) estocava imensas quantidades do vírus da varíola para ser usado como arma biológica. A varíola é considerada um *agente da categoria A* pelos Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos Estados Unidos, juntamente com o antraz, a peste, o botulismo, a tularemia e os vírus de febres hemorrágicas. Isso ocorre em consequência do seu grande potencial como agente de bioterrorismo e guerra biológica, passível de disseminar-se em larga escala e provocar doenças graves. A possibilidade de esses estoques de varíola serem adquiridos e utilizados por terroristas tem sido o impulso para renovar o interesse no desenvolvimento de novos programas de vacinação contra a varíola e drogas antivirais.

Como ponto positivo, os vírus da vacínia e o vírus da varíola dos canários podem ser usados de maneira benéfica como vetores para transferência de genes e para o desenvolvimento de vacinas híbridas. Esses vírus híbridos contêm e expressam genes de outros agentes infecciosos, e a infecção resulta em imunização contra ambos os agentes.

Estrutura e Replicação

Os poxvírus são os maiores vírus, sendo quase visíveis por microscopia óptica (Quadro 44-1). Eles medem 230 × 300 nm e têm forma ovoide ou de tijolo e morfologia complexa. A partícula viral do poxvírus tem que carregar muitas enzimas, incluindo a polimerase de ácido ribonucleico (RNA) dependente de ácido desoxirribonucleico (DNA), para permitir que a síntese do RNA mensageiro (RNAm) viral ocorra no citoplasma. O genoma viral consiste em grande fita dupla de DNA linear ligada nas duas extremidades. A estrutura e a replicação do vírus da vacínia são representativas dos demais poxvírus (Fig. 44-1). O genoma do vírus da vacínia consiste em aproximadamente 189.000 pares de bases.



Quadro 44-1 Características Específicas dos Poxvírus

Os poxvírus são os maiores e mais complexos vírus.

Os poxvírus têm uma complexa morfologia oval ou em forma de tijolo com estrutura interna.

Os poxvírus têm um genoma de DNA de dupla fita linear com as extremidades ligadas.

Os poxvírus são vírus de DNA que se replicam no citoplasma.

O vírus codifica e carrega todas as proteínas necessárias para a síntese de RNAm.

O vírus também codifica proteínas para funções como a síntese de DNA, reciclagem de nucleotídeos e mecanismos de evasão imune.

Os vírus são montados em corpúsculos de inclusão (corpúsculos de Guarnieri; fábricas), onde adquirem suas membranas externas,

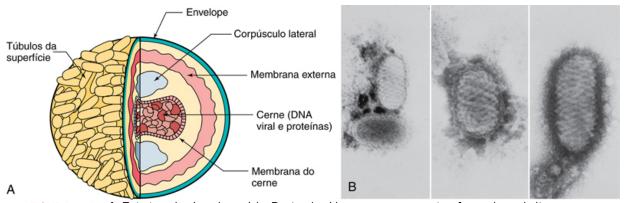
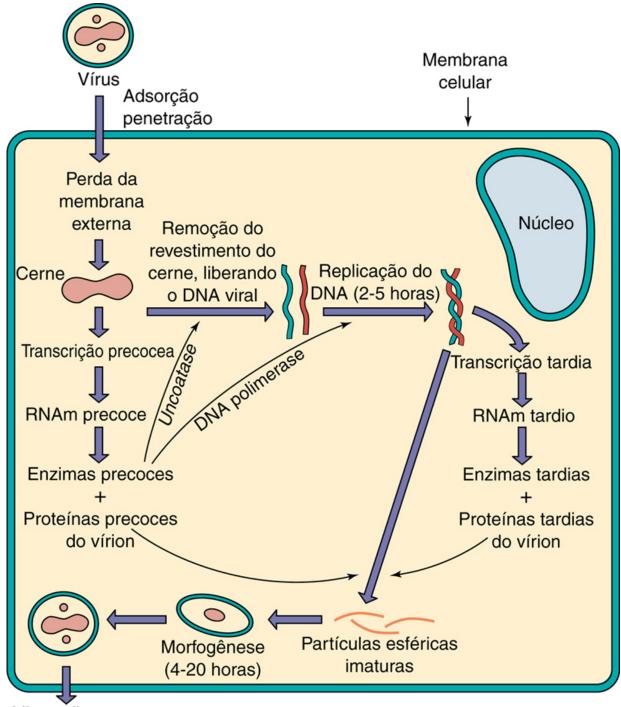


FIGURA 44-1 A, Estrutura do vírus da vacínia. Dentro do vírion, o cerne apresenta a forma de um haltere por causa dos grandes corpúsculos laterais. Os vírions têm uma membrana dupla: a "membrana externa" organizase ao redor do cerne no citoplasma e o vírus deixa a célula por exocitose ou por lise celular. **B**, Micrografia eletrônica do vírus orf. Observe sua estrutura complexa.

A replicação do poxvírus é única entre os vírus de DNA, em que a totalidade do ciclo de multiplicação ocorre dentro do citoplasma da célula hospedeira (Fig. 44-2). Assim, os poxvírus devem codificar enzimas necessárias para a síntese de RNAm e de DNA, assim como atividades que outros vírus de DNA normalmente obtêm da célula hospedeira.



Liberação por ruptura celular

ou exocitose

FIGURA 44-2 Replicação do vírus da vacínia. O cerne é liberado dentro do citoplasma, no qual as enzimas de vírion iniciam a transcrição de genes precoces. Uma enzima descoberta (*uncoatase*), codificada pelo vírus, então promove a liberação de DNA. Polimerases virais replicam o genoma e ocorre a transcrição tardia. O DNA e as proteínas são agrupados em cernes com uma membrana que os envolve. Uma membrana externa envolve o cerne, contendo os corpúsculos laterais e as enzimas necessárias para a infectividade. O vírion é exocitado ou é liberado pela lise celular.

Após ligar-se a um receptor de superfície da célula, o envelope externo do poxvírus funde-se às membranas celulares, tanto na superfície quanto no interior da célula. A transcrição gênica precoce é iniciada com a remoção da membrana externa. O cerne do vírion contém um ativador transcricional específico e todas as enzimas necessárias para a transcrição, incluindo uma RNA polimerase de subunidades múltiplas, bem como as enzimas para adição de poliadenilato (cauda poli A) e 5′ cap no RNAm. Entre as proteínas precoces produzidas está uma proteína descoberta (*uncoatase*) que remove a membrana do cerne, liberando assim o DNA viral dentro do citoplasma da célula. O DNA viral replica-se, então, em inclusões citoplasmáticas elétron-densas (corpúsculos de inclusão de Guarnieri), que são descritas como **fábricas**. O RNAm viral tardio que será traduzido em proteínas estruturais, vírion e outras proteínas é produzido após a replicação do DNA. Nos poxvírus, ao contrário dos outros vírus, as membranas agrupam-se em torno das fábricas do cerne. Para cada célula

infectada, aproximadamente 10.000 partículas virais são produzidas. Diferentes formas de vírus são liberadas por exocitose ou por lise celular, mas ambas são infecciosas.

A infecção pelo vírus do molusco contagioso decorre de forma semelhante à dos outros poxvírus, mas restringe-se aos ceratinócitos, promove o crescimento da célula, previne a apoptose, inibe a inflamação e não é citolítico. À semelhança dos papilomavírus humanos, o vírus é liberado quando ocorre a maturação e senescência do ceratinócito.

Patogênese e Imunidade

Após ser inalado, o vírus da varíola replica-se no trato respiratório superior (Fig. 44-3). A disseminação ocorre por propagação através da via linfática e por viremia associada com a célula. Os tecidos internos e dérmicos são inoculados após uma segunda e mais intensa viremia, causando a erupção simultânea das "pústulas" características. O molusco contagioso e os outros poxvírus, no entanto, são adquiridos por meio do contato direto com as lesões e não se espalham extensivamente. O molusco contagioso estimula o crescimento celular e provoca lesão semelhante a uma verruga, em vez de infecção lítica.

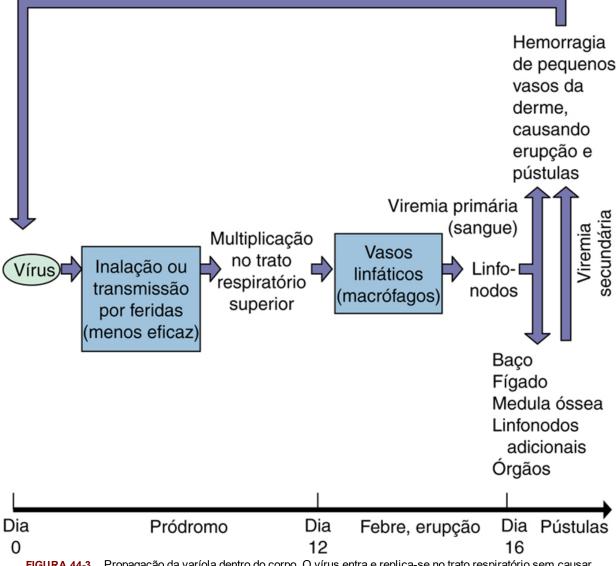


FIGURA 44-3 Propagação da varíola dentro do corpo. O vírus entra e replica-se no trato respiratório sem causar sintomas ou contágio. O vírus infecta macrófagos, que entram no sistema linfático e transportam o vírus para os linfonodos regionais. O vírus, a seguir, replica-se e inicia uma viremia, causando a propagação da infecção para o baço, a medula óssea, os linfonodos, o fígado e por todos os órgãos, seguindo até a pele (erupções). Uma viremia secundária provoca o desenvolvimento de lesões adicionais por todo o hospedeiro, seguindo-se de morte ou recuperação com ou sem sequelas. A recuperação da varíola está associada com imunidade prolongada e proteção ao longo da vida.

Os poxvírus codificam muitas proteínas que facilitam sua replicação e patogênese no hospedeiro. Elas compreendem proteínas que inicialmente estimulam o crescimento da célula do hospedeiro, causando, em seguida, lise celular e propagação viral.

A imunidade mediada por células é essencial para a resolução de uma infecção por poxvírus. No entanto, até 30% do genoma dos poxvírus é dedicado a atividades que ajudam o vírus a fugir ao controle imunológico, incluindo proteínas que impedem as respostas protetoras do interferon, do complemento, inflamatórias, dos anticorpos e da mediação por células.

Além disso, estes vírus podem propagar-se de célula a célula e evitar os anticorpos. Os mecanismos da doença por poxvírus estão resumidos no Quadro 44-2.



Quadro 44-2 Mecanismos Patológicos dos Poxvírus

A **varíola** é iniciada por infecção do trato respiratório e propaga-se principalmente pelo sistema linfático e por viremia associada com células.

O molusco contagioso e outros poxvírus são transmitidos por contato.

O vírus pode causar inicialmente a estimulação de crescimento celular e, por fim, a lise das células.

O vírus codifica mecanismos de evasão imune.

A imunidade celular e a imunidade humoral são importantes para a resolução.

A maioria dos poxvírus compartilha determinantes antigênicos, permitindo a preparação de vacinas vivas "seguras" a partir de poxvírus de animais.

Epidemiologia

A varíola e o molusco contagioso são vírus estritamente humanos. A varíola é transmitida por aerossóis e pelo contato com material da lesão ou por um fômite. O molusco contagioso é transmitido pelo contato direto (p. ex., contato sexual, lutas, autoinoculação) ou por fômites (p. ex., toalhas). Em contraste, os hospedeiros naturais para os demais poxvírus são outros animais vertebrados não humanos (p. ex., vacas, ovelhas, cabras) e eles infectam os seres humanos apenas por exposição acidental ou ocupacional (zoonose). Exemplo disso foi um surto recente de poxvírus de macacos nos Estados Unidos. Os indivíduos infectados tinham comprado, como animais de estimação, cães-da--pradaria que haviam estado em contato com ratos gigantes da Gâmbia, os quais eram a provável fonte do vírus. Alem disso, o ressurgimento da vacinação contra a varíola das equipes militares trouxe uma incidência de doença mediada por vacina (vacínia) em contatos.

A varíola era extremamente contagiosa e, como mencionado, propagava-se principalmente pelas vias respiratórias. Propagava-se também, de maneira menos eficiente, por meio do contato próximo com o vírus seco em roupas ou em outros materiais. Apesar da gravidade da doença e de sua tendência à propagação, vários fatores contribuíram para a sua eliminação, conforme listado no Quadro 44-3.



Quadro 44-3 Propriedades da Varíola Natural que Acarretaram sua

Erradicação

Características Virais

Os humanos são os únicos hospedeiros (sem reservatórios animais ou vetores)

Sorotipo único (imunização protege contra todas as infecções)

Características da Doença

Apresentação consistente da doença com pústulas visíveis (a identificação das fontes de contágio permite a quarentena e a vacinação dos contatos)

Vacina

A imunização com poxvírus de animais protege contra a varíola

A vacina é estável, barata e fácil de administrar

A presença de cicatrizes indica uma vacinação bem-sucedida

Serviço de Saúde Pública

Um programa bem-sucedido da Organização Mundial da Saúde que combina vacinação e quarentena

Síndromes Clínicas

As doenças associadas aos poxvírus estão listadas na Tabela 44-1.



Doenças Associadas a Poxvírus

Vírus	Doença	Fonte	Localização
Varíola	Varíola (agora extinta)	Humanos	Extinto
Vacínia	Usado na vacinação contra a varíola	Isolado em laboratório	_
Orf	Lesões localizadas	Zoonose: carneiros, cabras	Mundial
Poxvírus bovino	Lesões localizadas	Zoonose: roedores, gatos, vacas	Europa
Pseudopoxvírus bovino	Nódulo dos ordenhadores	Zoonose: gado leiteiro	Mundial
Poxvírus de macacos	Doença generalizada	Zoonose: macacos, esquilos	África
Vírus da estomatite papular bovina	Lesões localizadas	Zoonose: bezerros, gado de corte	Mundial
Tanapox	Lesões localizadas	Zoonose rara: macacos	África
Yabapox	Lesões localizadas	Zoonose rara: macacos, babuínos	África
Molusco contagioso	Diversas lesões cutâneas	Humanos	Mundial

Modificada de Balows A, Hausler WJ, Lennette EH, editors: Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice, vol 2, New York, 1988, Springer-Verlag.

Varíola

As duas variantes de varíola eram a varíola maior, que estava associada a mortalidade de 15% a 40%, e a varíola menor, associada a mortalidade de 1%. A varíola iniciava-se geralmente pela infecção do trato respiratório com posterior envolvimento de glândulas linfáticas locais, o que, por sua vez, causava viremia.

Os sintomas e o curso da doença são apresentados na Figura 44-4, e a erupção característica pode ser vista na Figura 44-5. Após um período de incubação de 5-17 dias, a pessoa infectada manifestava febre alta, fadiga, dor de cabeça intensa, dores nas costas e mal-estar, seguidos de erupção vesicular na boca e, logo depois, no corpo. Vômitos, diarreia e sangramento excessivo poderiam aparecer rapidamente na sequência. O aparecimento simultâneo das erupções vesiculares distingue a varíola das vesículas da varicela-zóster que irrompem sucessivamente.



FIGURA 44-4 Criança com varíola. Observe as erupções características.



FIGURA 44-5 Lesão pelo vírus orf no dedo de um taxidermista. (Cortesia de Joe Meyers, MD, Akron, Ohio.)

A varíola foi a primeira doença a ser controlada por imunização, e sua erradicação é uma das maiores vitórias da epidemiologia médica. Sua erradicação resultou de uma campanha maciça da OMS para vacinar todas as pessoas suscetíveis, especialmente aquelas expostas a qualquer indivíduo com a doença, e assim interromper a cadeia de transmissão pessoa a pessoa. A campanha começou em 1967 e foi bem-sucedida. O último caso de infecção adquirida naturalmente foi relatado em 1977, e a erradicação da doença foi reconhecida em 1980.

A variolização, uma antiga abordagem de imunização, envolvia a inoculação de pessoas suscetíveis com o pus virulento da varíola. Isso foi realizado primeiramente no Extremo Oriente e mais tarde na Inglaterra. Cotton Mather introduziu essa prática nos Estados Unidos. A variolização estava associada a uma taxa de mortalidade de aproximadamente 1%, risco menor do que aquele associado à própria varíola. Em 1796, Jenner desenvolveu e popularizou uma vacina utilizando um vírus menos virulento, um poxvírus bovino, que compartilha determinantes antigênicos com a varíola.

Interesse renovado tem sido dedicado aos medicamentos antivirais que são eficazes contra a varíola e outros poxvírus. Cidofovir, um análogo de nucleotídeo capaz de inibir a DNA polimerase viral, é eficaz e aprovado para o tratamento de infecções por poxvírus. Vacinas mais recentes e seguras estão sendo armazenadas em resposta às preocupações relacionadas com o uso da varíola na guerra biológica.

Vacínia e Doenças Relacionadas com Vacinas (Caso Clínico 44-1)

A vacínia é o vírus usado para a vacina contra varíola. Ainda que considerado como derivado da varíola bovina, ele pode ser um híbrido ou outro poxvírus. O procedimento de vacinação consistia em arranhar o vírus vivo na pele do paciente com uma agulha bifurcada e, em seguida, observar o desenvolvimento de vesículas e pústulas para confirmar uma "pega". Conforme a incidência da varíola diminuía, entretanto, tornou-se evidente que havia mais complicações relacionadas com vacinação do que casos de varíola. Várias dessas complicações foram graves e até fatais. Por isso, a vacinação de rotina contra a varíola começou a ser interrompida na década de 1970 e foi totalmente descontinuada depois de 1980, mas foi reintroduzida para os militares e socorristas em caso de guerra biológica.

Os Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (MMWR Morb Mortal Wkly Rep 56:417-419, 2007) descreveu o caso de uma mulher que visitou uma clínica de saúde pública no Alasca, porque a dor de ulcerações vaginais tinha aumentado ao longo do curso de 10 dias. Não havia febre, coceira ou disúria. O exame clínico mostrou duas úlceras rasas, vermelhidão e corrimento vaginal. Não havia linfadenopatia inguinal. Amostra de vírus foi coletada a partir da lesão e enviada aos CDC e identificada como a cepa do vírus da vacínia utilizada em vacinas. A presença do vírus foi identificada por uma variação do teste de reação em cadeia da polimerase, que produz fragmentos de DNA característicos da vacínia a partir do genoma. Embora a mulher tenha insistido que utiliza rotineiramente preservativos durante as relações sexuais, um preservativo rompeu durante a relação sexual vaginal com um novo parceiro sexual. O parceiro era do exército dos Estados Unidos e tinha sido vacinado contra a varíola três dias antes de iniciar seu relacionamento com a mulher. O vírus proveniente da lesão foi colocado no preservativo ou no local. Militares e outras pessoas estão recebendo imunização de vacínia para proteção contra a varíola usada como arma biológica. Isto aumenta o potencial para a transmissão não intencional do vírus da vacínia utilizado na vacina. Outros casos de infecção de vacínia relacionada com vacina incluem bebês e indivíduos com dermatite atópica, que têm complicações mais graves.

As complicações da vacinação incluíam encefalite e infecção progressiva (vacínia gangrenosa); esta última ocorrendo, ocasionalmente, em pacientes imunocomprometidos que foram inadvertidamente vacinados. Foram observados casos recentes de doença relacionada com a vacinação em membros da família e contatos de militares imunizados (Caso Clínico 44-1). O vírus foi transmitido a estes indivíduos pelo contato com o fluido das lesões vesiculares. Eles podem ser tratados com a imunoglobulina da vacínia e fármacos antivirais.

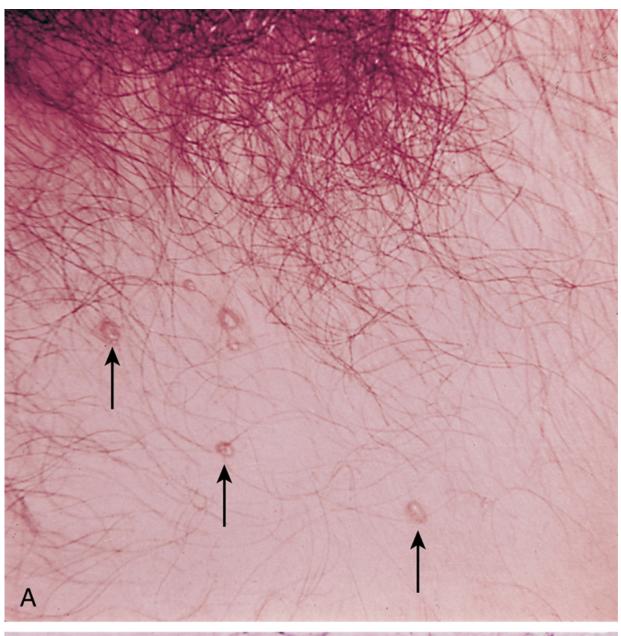
Orf, Poxvírus Bovino e Poxvírus dos Macacos

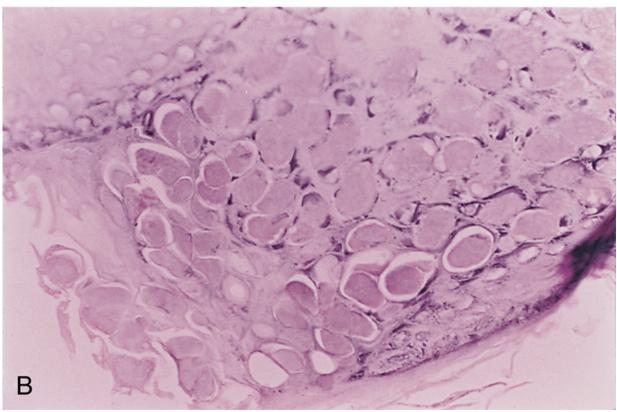
A infecção humana com os vírus orf (poxvírus de ovelhas e cabras) ou da varíola bovina (poxvírus bovino ou vacínia) é usualmente um risco ocupacional que resulta do contato direto com as lesões do animal. Uma única lesão nodular comumente se forma no ponto de contato, como dedos, mão ou antebraço, e é hemorrágica (na varíola bovina) ou granulomatosa (com orf ou pseudovaríola bovina) (Fig. 44-5). Lesões vesiculares frequentemente se desenvolvem e em seguida regridem em 25-35 dias, geralmente sem formação de cicatrizes. As lesões podem ser confundidas com antraz. O vírus pode proliferar em cultura ou ser visto diretamente em microscopia eletrônica, mas é usualmente diagnosticado a partir dos sintomas e da história do paciente.

Os mais de 100 casos de doenças que se assemelham à varíola têm sido atribuídos ao vírus da varíola de macacos. Exceto pelo surto em Illinois, Indiana e Wisconsin em 2003, todos ocorreram na África ocidental e central, especialmente no Zaire. A varíola de macacos causa uma versão mais suave da doença, incluindo a erupção cutânea em pústulas.

Molusco Contagioso (Quadro 44-4)

O molusco contagioso constitui uma doença frequente, que afeta entre 3% a 20% da população. As lesões do molusco contagioso diferem significativamente de outras lesões do tipo "pox" (causadas pelos demais poxvírus) por serem nodulares ou semelhantes a verrugas (Fig. 44-6A). Começam como pápulas e em seguida se tornam nódulos umbilicados, semelhantes a pérolas, que têm de 2 a 10 mm de diâmetro e apresentam um tampão caseoso central que pode ser espremido. São mais comuns no tronco, na genitália e nos membros superiores, usualmente ocorrendo em um agregado de cinco a 20 nódulos. O período de incubação para o molusco contagioso é de 2-8 semanas. A doença é mais comum em crianças do que em adultos, mas sua incidência está aumentando em indivíduos sexualmente ativos e imunocomprometidos.







Molusco contagioso: Uma menina de 5 anos tem em seu braço várias lesões semelhantes a verrugas que, quando apertadas, exsudam um material esbranquiçado.

O diagnóstico de molusco contagioso é confirmado histologicamente pelo achado de características e grandes inclusões citoplasmáticas eosinofílicas (corpúsculos do molusco) em células epiteliais (Fig. 44-6B). Esses corpúsculos podem ser vistos em espécimes de biópsia ou no centro caseoso expresso de um nódulo. O vírus do molusco contagioso não pode proliferar em cultura de tecidos ou em modelos animais.

As lesões do molusco contagioso normalmente desaparecem em 2-12 meses, presumivelmente como resultado de respostas imunológicas. Os nódulos podem ser removidos por curetagem (raspagem) ou pela aplicação de nitrogênio líquido ou soluções de iodo.

Poxvírus Híbridos para a Entrega de Genes e Vacinas

Os vírus da vacínia e vírus da varíola dos canários estão sendo utilizados como vetores de expressão para a produção de vacinas vivas recombinantes/híbridas contra agentes infecciosos mais virulentos (Fig. 44-7). Para esse processo, constrói-se um plasmídeo para conter um gene exógeno que codifica a proteína imunizante, e esse gene é flanqueado por sequências genéticas específicas de poxvírus para promover a recombinação. Este plasmídeo é inserido numa célula hospedeira, que é, em seguida, infectada com o poxvírus. O gene exógeno é incorporado no genoma do poxvírus de "resgate" em razão das sequências virais homólogas incluídas no plasmídeo. A imunização com o poxvírus recombinante resulta da expressão do gene exógeno e da sua apresentação à resposta imune, quase como se fosse infectado pelo outro agente. Um vírus da vacínia híbrido, contendo a proteína G do vírus da raiva, incorporado em iscas de comida espalhadas em florestas, tem sido usado com sucesso para imunizar guaxinins, raposas e outros mamíferos. Vacinas experimentais para o vírus da imunodeficiência humana, hepatite B, influenza, entre outros, também têm sido preparadas usando-se essas técnicas. O potencial para a produção de outras vacinas dessa maneira é ilimitado.

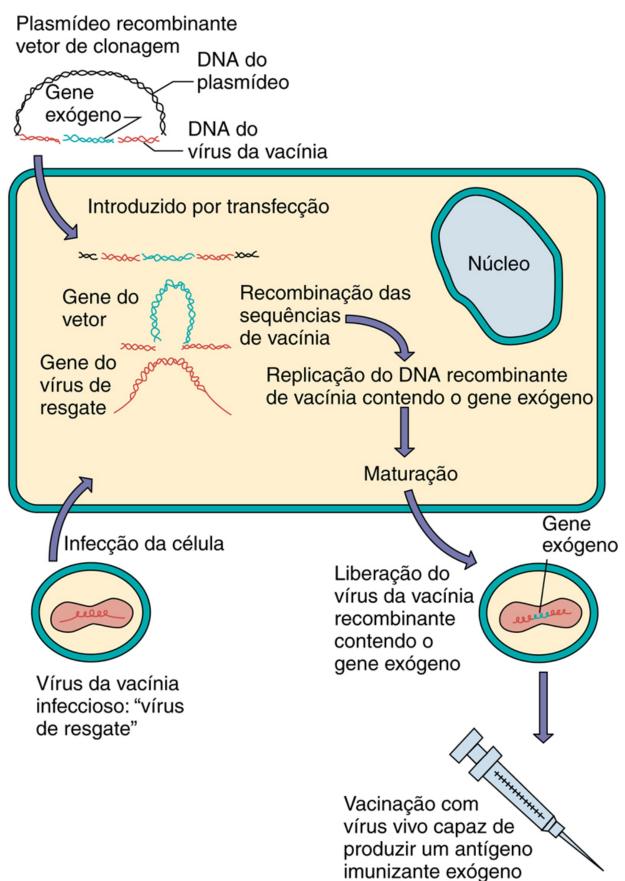


FIGURA 44-7 O vírus da vacínia como vetor de expressão para a produção de vacinas recombinantes VIVAS. (Modificada de Piccini A. Paoletti E: Vaccinia: virus, vector, vaccine. *Adv Virus Res* 34:43-64, 1988.)

Os vírus de vacínia híbridos também estão sendo utilizados em agentes oncolíticos, para matar seletivamente, e para terapia de substituição de genes.

Referências Bibliográficas

Breman JG, Henderson DA. Diagnosis and management of smallpox. *N Engl J Med.* 2002;346:1300–1308. Cann AJ. *Principles of molecular virology*. San Diego: Academic; 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 4 Oxford: Oxford University Press; 2011.

Fenner F. A successful eradication campaign: global eradication of smallpox. Rev Infect Dis. 1982;4:916–930.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious diseases. ed 3 Philadelphia: WB Saunders; 2004.

Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. Fields virology. ed 5 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. ed 7 Philadelphia: Elsevier; 2010.

Moyer RW, Turner PC. Poxviruses, Curr Top Microbiol Immunol (vol 163). New York: Springer-Verlag; 1990.

Patel NA, Diven D: Vaccinia, 2014. http://emedicine.medscape.com/article/231773-overview. Accessed May 5, 2015.

Piccini A, Paoletti E. Vaccinia: virus, vector, vaccine. Adv Virus Res. 1988;34:43-64.

Randall CMH, Shisler JL. Molluscum contagiosum virus. Future

Virol. 2013;8:561–573: Website: www.medscape.com/viewarticle/805709_print. Accessed May 5, 2015.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. San Diego: Academic; 2002.

Voyles BA. Biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

White DO, Fenner FJ. Medical virology. ed 4 New York: Academic; 1994.

CAPÍTULO 45

Parvovírus

Uma menina de 6 anos contraiu uma infecção respiratória viral; tornou-se muito pálida, fraca, cansada e, em consequência de uma crise aplásica transitória, anêmica.

- 1. Que fator predisponente exacerbou uma doença relativamente benigna nessa criança?
- 2. Qual a célula hospedeira para esse vírus e o que determina esse tropismo?
- 3. Quais sinais da doença aparecem quando um adulto é infectado? E se for um feto? As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Parvovírus

Palavras-gatilho

B19, quinta doença, "face esbofeteada", crise aplásica, crise falciforme, abortos espontâneos

Biologia, Virulência e Doença

- Pequeno, capsídeo icosaédrico, genoma de DNA de cadeia simples
- Precisa replica-se em células em crescimento: células precursoras eritroides
- Crianças: eritema infeccioso (quinta doença); febre elevada durante a viremia seguida mais tarde por erupção cutânea
- Indivíduos com anemia crônica: crise aplásica
- Adultos: artralgias e artrite
- Feto: doença relacionada à anemia e óbito (hidropisia fetal)

Epidemiologia

• Transmitido por aerossóis, contato direto

Diagnóstico

• Sintomatologia, confirmação pela análise do genoma sanguíneo por PCR

Tratamento, Prevenção e Controle

• Ausência de formas de controle ou tratamento

Parvoviridae é uma família composta pelos menores vírus de ácido desoxirribonucleico (DNA). Seu tamanho pequeno e repertório genético limitado os tornam mais dependentes da célula hospedeira do que qualquer outro vírus de DNA, ou ainda fazem com que requeiram a presença de um vírus auxiliar para sua replicação. O **B19** e o **bocavírus** são os únicos parvovírus conhecidos como causadores de doença humana.

O B19 normalmente causa **eritema infeccioso**, ou **quinta doença**, uma doença exantemática que causa febre branda e ocorre em crianças. Tem este último nome porque faz parte de um dos cinco exantemas clássicos da infância (os primeiros quatro são varicela, rubéola, roséola e sarampo). O B19 também é responsável por episódios de **crise aplásica em pacientes com anemia hemolítica crônica** e está associado a **poliartrite aguda** em adultos. A infecção do feto durante a gravidez pode resultar em hidropisia fetal e aborto. O **bocavírus** é um vírus recém-descoberto que pode causar doença respiratória aguda e pode se tornar grave em crianças pequenas.

Outros parvovírus, como o RA-1 (isolado a partir de um indivíduo com artrite reumatoide) e os parvovírus presentes nas fezes, não foram comprovados como causadores de doença humana. Os parvovírus relatados em felinos e caninos não causam doenças ao ser humano e podem ser evitados com a vacinação do animal de estimação.

Os vírus adenoassociados (VAAs) são membros do gênero *Dependovirus* Eles infectam comumente os humanos, mas se replicam apenas em associação com um segundo vírus "auxiliar", geralmente um adenovírus. Os dependovírus não causam doença nem modificam a infecção por seus vírus auxiliares. Essas propriedades e a propensão dos VAAs de se integrarem ao cromossomo hospedeiro tornaram os VAAs geneticamente modificados candidatos ao uso na **terapia gênica de substituição**. Um terceiro gênero da família, o *Densovirus*, infecta apenas os insetos.

Estrutura e Replicação

Os parvovírus são extremamente pequenos (18 a 26 nm de diâmetro) e têm um capsídeo icosaédrico, não envelopado (Fig. 45-1 e Quadro 45-1). O genoma do vírus B19 contém uma molécula de DNA de fita simples linear com uma massa molecular de 1,5 a 1,8 × 10⁶ Da (5.500 bases de comprimento) (Quadro 45-2). As fitas de DNA positivo ou negativo são empacotadas separadamente nos vírions. O genoma codifica três proteínas estruturais e duas proteínas principais não estruturais. Diferentemente dos vírus de DNA maiores, os parvovírus necessitam infectar células mitoticamente ativas, visto que não possuem meios de estimular o crescimento celular ou codificar uma polimerase. Sabe-se que existe apenas um sorotipo de B19.

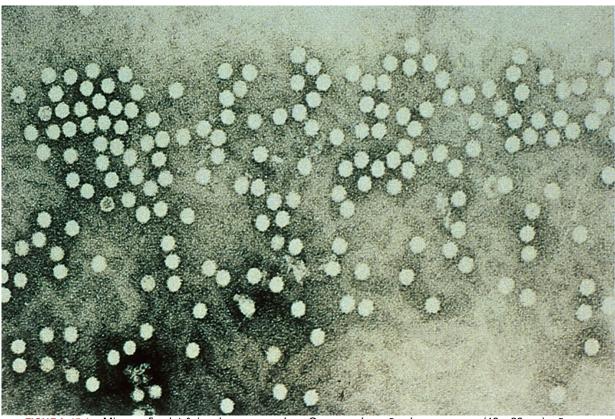


FIGURA 45-1 Micrografia eletrônica de um parvovírus. Os parvovírus são vírus pequenos (18 a 26 nm), não envelopados, com DNA de fita simples. (Cortesia de Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)



Quadro 45-1 Características Específicas dos Parvovírus

É o menor vírus de DNA

Capsídeo nu de formato icosaédrico

Genoma de DNA fita simples (polaridade + ou –)

Requer células em crescimento (B19) ou vírus auxiliar (dependovírus) para replicação



Quadro 45-2 Genoma do Parvovírus

Genoma de DNA de fita simples linear

Aproximadamente 5,5 quilobases de comprimento

Fitas de polaridades positiva e negativa empacotadas em vírions B19 separados

Extremidades do genoma têm repetições invertidas que se hibridizam para formar alças em grampo e um iniciador (*primer*) para a síntese de DNA

Regiões de codificação separadas para proteínas não estruturais (NS) e estruturais (VP)

O vírus B19 replica-se em células mitoticamente ativas e prefere células da linhagem eritroide, como as células da medula óssea humana, células eritroides de fígado fetal e células leucêmicas de origem eritroide (Fig. 45-2). Após se ligar ao antígeno do grupo P de eritrócitos (globosídeo) e de sua internalização, o vírus perde o capsídeo e o genoma de DNA de fita simples, e é encaminhado para o núcleo. Os fatores disponíveis apenas durante a fase S do ciclo de crescimento celular e DNA polimerases celulares são necessários para gerar uma fita complementar de DNA.

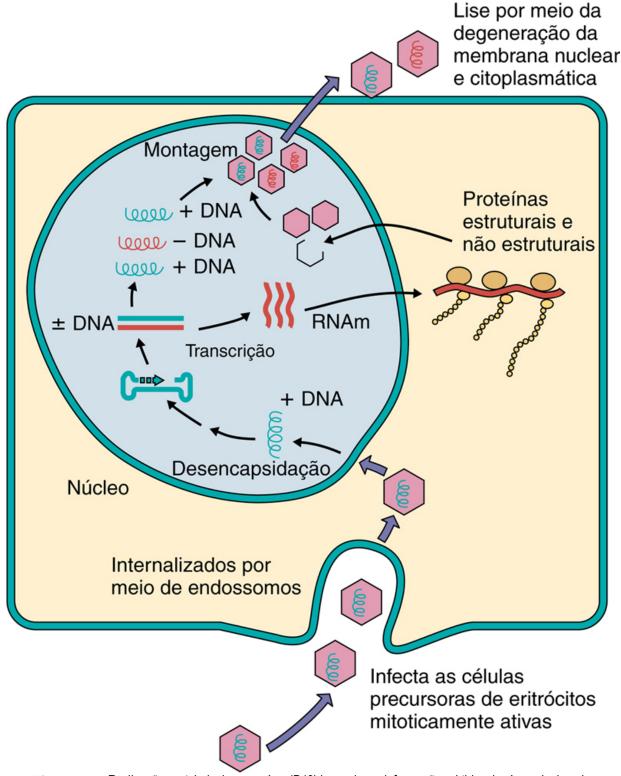


FIGURA 45-2 Replicação postulada do parvovírus (B19) baseada em informações obtidas de vírus relacionados (MVM — vírus minuto de camundongos). O parvovírus internalizado libera seu genoma no núcleo da célula hospedeira, onde o DNA de fita simples (positivo ou negativo) é convertido para o DNA de dupla fita por meio de fatores celulares e polimerases presentes somente nas células em crescimento. A transcrição, a replicação e a montagem ocorrem no núcleo. O vírus é liberado por meio da lise da célula.

O genoma do vírion de DNA de fita simples é convertido para uma versão de DNA de dupla fita, que é necessária para a transcrição e replicação. As sequências de repetição invertidas de DNA em ambas as extremidades do genoma se dobram e se hibridizam criando uma sequência iniciadora (*primer*) para a DNA polimerase celular. Esta cria a fita complementar que permite replicar o genoma viral. As duas principais proteínas não estruturais e as proteínas estruturais VP1 e VP2 do capsídeo viral são sintetizadas no citoplasma e as proteínas estruturais voltam para o núcleo, onde o vírion é montado. A proteína VP2 é clivada mais tarde para produzir a VP3. As membranas nuclear e citoplasmática degeneram-se, e o vírus é liberado por meio da lise celular.

Patogênese e Imunidade

O B19 tem como alvo as células precursoras de eritrócitos e é citolítico para elas (Quadro 45-3). A doença causada pelo parvovírus B19 é determinada pela destruição direta dessas células e pela subsequente resposta imunológica à infecção (erupção cutânea e artralgia). A imunopatogênese do vírus B19 e da rubéola são semelhantes; ambos são causados por imunocomplexos com vírions, consequentemente ambos causando erupções cutâneas e artralgias em adultos.



Quadro 45-3 Mecanismos da Doença do Parvovírus B19

- O vírus se dissemina por secreções **respiratórias** e **orais**.
- O vírus infecta células precursoras eritroides mitoticamente ativas na medula óssea e estabelece infecção lítica.
- O vírus estabelece ampla viremia e pode atravessar a placenta.
- O anticorpo é importante para resolução e profilaxia.
- O vírus causa doença bifásica.
 - Fase inicial relacionada à viremia:
 - Sintomas semelhantes aos da gripe e disseminação do vírus
 - Fase tardia relacionada com resposta imunológica:
 - Complexos imunes circulantes de anticorpos e vírions que não fixam o complemento
 - Exantema eritematoso maculopapular, artralgia e artrite

Depleção de células precursoras eritroides e desestabilização de eritrócitos iniciando **crise aplásica em pessoas com anemia crônica**

Estudos realizados em pacientes voluntários sugerem que o vírus B19 primeiro se replica na nasofaringe ou no trato respiratório superior e, em seguida, se dissemina via corrente sanguínea (viremia) para a medula óssea e outros locais, onde se replica e destrói as células precursoras de eritrócitos (Fig. 45-3). O bocavírus também inicia a infecção pelo trato respiratório, replicando-se no epitélio respiratório e causando doença.

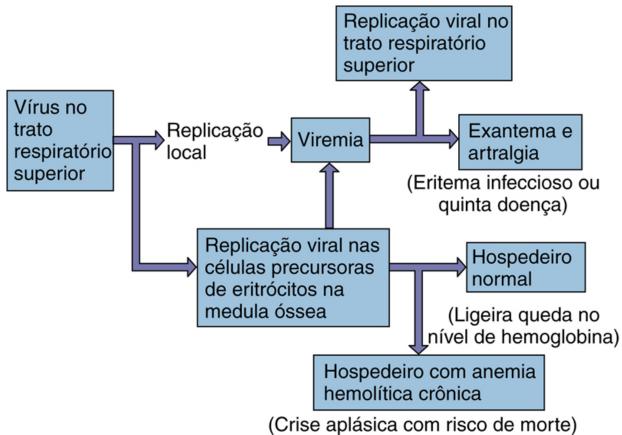


FIGURA 45-3 Mecanismo de disseminação do parvovírus dentro do corpo.

O B19 causa a doença viral com um **curso bifásico**. O *estágio febril inicial é o estágio infeccioso*. Durante este período, a produção de eritrócitos tem uma parada de aproximadamente uma semana em razão da destruição das células precursoras de eritrócitos pelo vírus. Uma viremia maciça ocorre dentro de oito dias de infecção e é acompanhada por sintomas não específicos semelhantes aos da gripe. Grandes quantidades de vírus também são liberadas por meio das secreções orais e respiratórias. Anticorpos interrompem a viremia e são importantes para a resolução da doença, porém contribuem para agravar os sintomas.

O segundo estágio, o estágio sintomático, é mediado imunologicamente. A erupção cutânea e a artralgia observadas nesse estágio coincidem com o aparecimento de anticorpo vírus-específico, com o desaparecimento do vírus B19 detectável e com a formação de complexos imunes.

Hospedeiros com anemia hemolítica crônica (p. ex., anemia de células falciformes) que se infectam com o vírus B19 podem sofrer uma reticulocitopenia com risco de morte, referida como **crise aplásica**. A reticulocitopenia resulta da combinação de depleção pelo B19 das células precursoras das hemácias e diminuição do tempo de vida dos eritrócitos causada pela anemia de base.

Epidemiologia

Aproximadamente 65% da população adulta já foi infectada pelo B19 por volta dos 40 anos de idade (Quadro 45-4). O eritema infeccioso é mais comum em crianças e adolescentes de 4-15 anos de idade, que são fontes de contágio. A artralgia e a artrite têm mais probabilidade de ocorrer em adultos. Muito provavelmente, gotículas respiratórias e secreções orais transmitem o vírus. A doença geralmente ocorre no final do inverno e na primavera. A transmissão parenteral do vírus por concentrados de fatores de coagulação sanguíneos também tem sido descrita.



Quadro 45-4 Epidemiologia da Infecção por Parvovírus B19

Doença/Fatores Virais

O capsídeo do vírus é resistente à inativação

O período de contágio antecede os sintomas

O vírus atravessa a placenta e infecta o feto

Transmissão

É transmitido via gotículas respiratórias

Quem Está sob Risco?

Crianças, especialmente aquelas nas fases pré-escolar e escolar: eritema infeccioso (quinta doença)

Pais de crianças com infecção por B19

Mulheres grávidas: infecção e doença fetal

Pessoas com anemia crônica: crise aplásica

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado no mundo todo

A quinta doença é mais comum no fim do inverno e na primavera

Meios de Controle

Não existem meios de controle

O bocavírus é encontrado em todo o mundo e causa doença em crianças com menos de dois anos de idade. O vírus é transmitido por secreção respiratória, mas também pode ser isolado de amostras de fezes.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 45-1)

O vírus B19, conforme citado, é a causa do eritema infeccioso (quinta doença) (Quadro 45-5). A infecção começa com período prodrômico inespecífico de 7-10 dias, durante o qual o indivíduo é contagioso. A infecção de um hospedeiro normal pode provocar sintomas que passam despercebidos ou febre e sintomas inespecíficos (p. ex., dor de garganta, calafrios, mal-estar, mialgia), bem como leve decréscimo nos níveis de hemoglobina (Fig. 45-4). Esse período é seguido por exantema cutâneo característico nas bochechas, parecendo que a pessoa foi esbofeteada. O exantema geralmente se espalha, em especial para áreas expostas da pele, como a dos braços e pernas (Fig. 45-5), regredindo entre 1-2 semanas.



Quadro 45-5 Consequências Clínicas da Infecção por Parvovírus (B19)

Doença branda, semelhante à gripe (febre, dor de cabeça, calafrios, mialgia, mal-estar)

Eritema infeccioso (quinta doença)

Crise aplásica em pessoas com anemia crônica

Artropatia (poliartrite: sintomas em muitas articulações)

Risco de morte fetal como resultado da passagem do vírus B19 pela placenta, causando doença relacionada com anemia, mas não anomalias congênitas

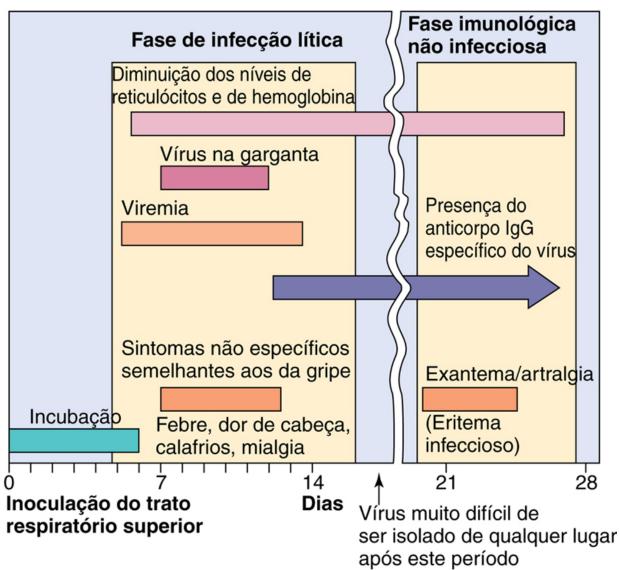


FIGURA 45-4 Evolução temporal da infecção pelo parvovírus (B19). O B19 causa doença bifásica: primeiro, uma fase de infecção inicial lítica caracterizada por febre, sintomas semelhantes aos da gripe, e, então, uma fase imunológica não infecciosa caracterizada por exantema e artralgia. *IgG*, imunoglobulina G.



FIGURA 45-5 Aparência de "face esbofeteada" é típica do exantema do eritema infeccioso. (De Hart CA, Broadhead RL: A color atlas of pediatric infectious diseases, London, 1992, Wolfe.)



Caso Clínico 45-1 Infecção por B19 em Receptor de Transplante

Anemia persistente, em vez de transitória, ocorre em indivíduos imunocomprometidos infectados pelo parvovírus humano B19. Um caso foi reportado por Pamidi e colaboradores (*Transplantation* 69:2666-2669, 2000). Após um ano de terapia imunossupressora (prednisona, tacrolimus e micofenolato de mofetila) em decorrência de transplante renal, um homem de 46 anos de idade apresentou dispneia, vertigem e fadiga após exercícios. Testes laboratoriais confirmaram anemia. Análises da medula óssea indicaram hiperplasia eritrocítica com predomínio de eritroblastos imaturos. Proeritroblastos submetidos a imuno-histoquímica foram encontrados, com o citoplasma basofílico e inclusões intranucleares corados imuno-histologicamente pelo antígeno B19. O paciente recebeu transfusões de concentrados de hemácias (16 bolsas) durante seis semanas, porém continuou anêmico. Testes sorológicos indicaram a presença de anticorpos IgM anti-B19 (1:10) e títulos insignificantes de IgG. O tratamento com IgG intravenosa por cinco dias resultou em melhora significativa. A terapia imunossupressora desse paciente diminuiu imensamente as respostas imunes medidas por células T auxiliares, impedindo a produção de anticorpos IgG. A resolução de infecção viral, como a causada por parvovírus, depende de robusta resposta imunológica mediada por anticorpos. Assim, em sua ausência, anemia transitória normal causada pela replicação viral em células precursoras de eritrócitos pode não ser resolvida.

A infecção por parvovírus B19 em adultos ocasiona poliartrite (com ou sem exantema cutâneo), que pode durar semanas, meses ou mais. Predomina a artrite de mãos, punhos, joelhos e tornozelos. O exantema cutâneo pode preceder a artrite, mas isso não ocorre com frequência. Em indivíduos imunocomprometidos, a infecção por B19 pode resultar em doença crônica.

A complicação mais séria da infecção por parvovírus é a crise aplásica que ocorre em pacientes com anemia hemolítica crônica (p. ex., anemia de células falciformes). A infecção desses indivíduos acarreta redução transitória da eritropoese na medula óssea. A redução resulta em reticulocitopenia transitória que dura de 7-10 dias e em decréscimo no nível de hemoglobina. Crise aplásica é acompanhada por febre e sintomas inespecíficos, como mal-estar, mialgia, calafrios e pruridos. Exantema cutâneo maculopapular com artralgia e algum edema articular também podem estar presentes.

A infecção por B19 em mãe soronegativa aumenta o risco para de fetal. O vírus pode infectar o feto e destruir os precursores dos eritrócitos, causando anemia, edema, hipóxia e insuficiência cardíaca congestiva (hidropisia fetal). A infecção em grávidas soropositivas não tem efeito adverso sob o feto. Não há evidências de que o B19 cause anomalias congênitas (Quadro 45-6; ver Quadro 45-5).



Um paciente de 10 anos de idade tem história de cinco dias de doença semelhante à gripe (dor de cabeça, febre, dor muscular, cansaço) e, uma semana mais tarde, desenvolve exantema cutâneo intenso nas bochechas e outro brando "em trama" sobre o tronco e extremidades.

O bocavírus pode provocar doença respiratória aguda branda ou grave. A infecção mais grave ocorre em crianças menores de dois anos de idade, que podem apresentar bronquiolite com sibilância e viremia que se alonga além da doença. Um caso fatal de bronquiolite por bocavírus já foi relatado.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de eritema infeccioso geralmente se baseia no quadro clínico. Para que a doença por B19 seja diagnosticada definitivamente, entretanto, a imunoglobulina (Ig)M específica ou o DNA viral precisam ser detectados (p. ex., para fazer a distinção entre o exantema cutâneo causado pelo B19 e aquele ocasionado pela rubéola em uma mulher grávida). Ensaios imunoenzimáticos do tipo ELISA para pesquisa de IgM e IgG específicas para parvovírus B19 estão disponíveis. A reação em cadeia da polimerase é um método muito sensível para detectar o genoma do B19 e do bocavírus em amostras clínicas. O isolamento do vírus não é realizado.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não há tratamento antiviral específico ou meios de controle disponíveis. Há vacinas disponíveis para prevenção de parvoviroses do cão e do gato.

Referências Bibliográficas

Allander T. Human bocavirus. J Clin Virol. 2008;41:29-33.

Anderson LJ. Human parvoviruses. J Infect Dis. 1990;161:603-608.

Anderson MJ. Parvoviruses. In: Belshe RB, ed. Textbook of human virology. ed 2 St Louis: Mosby; 1991.

Berns KI. Parvovirus replication. Microbiol Rev. 1990;54:316–329.

Berns KI. The parvoviruses. New York: Plenum; 1994.

Brown KE. The expanding range of parvoviruses which infect humans. Rev Med Virol. 2010;20:231-244.

Brown KE, Young NS. Parvovirus B19 in human disease. Annu Rev Med. 1997;48:59-67.

Cann AJ. Principles of molecular virology. San Diego: Academic; 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Cennimo DJ, Dieudonne A: Parvovirus B19 infection. http://emedicine.medscape.com/article/961063-overview. Accessed November 4, 2014.

Chorba T, Coccia P, Holman RC, et al. The role of parvovirus B19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (fifth disease). *J Infect Dis*. 1986;154:383–393.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 4 Oxford: Oxford University Press; 2011.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious diseases. ed 3 Philadelphia: WB Saunders; 2004.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Mandell GL, Bennet JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. ed 7 Philadelphia: Elsevier; 2010.

Naides SJ, Scharosch LL, Foto F, et al. Rheumatologic manifestations of human parvovirus B19 infection in adults. *Arthritis Rheum*. 1990;33:1297–1309.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Törk TJ. Parvovirus B19 and human disease. Adv Intern Med. 1992;37:431–455.

Ursic T, et al. Human bocavirus as the cause of a life-threatening infection. J Clin Microbiol. 2011;49:1179–1181.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

Ware RE. Parvovirus infections. In: Katz SL, Gershon AA, Hotez PJ, eds. *Krugman's infectious diseases of children*. ed 10 St Louis: Mosby; 1998.

Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. N Engl J Med. 2004;350:586–597.

CAPÍTULO 46

Picornavírus

Um lactente de nove dias de idade com febre e parecendo séptico progrediu para síndrome de múltiplos órgãos com uma combinação de hepatite, meningoencefalite, miocardite e pneumonia. O líquido cefalorraquidiano (LCR) estava com o nível de glicose normal e não apresentava infiltrado neutrofílico. Foi iniciada a terapia com aciclovir no lactente por suspeita de infecção congênita pelo vírus do herpes simples (HSV). A análise do genoma (reação em cadeia da polimerase [PCR] e transcriptase reversa [RT]-PCR) do LCR não detectou HSV, mas um enterovírus que foi, subsequentemente, identificado como ecovírus 11 e não coxsakievírus B. Alguns dias antes a mãe teve febre passageira e resfriado.

- 1. Como o bebê veio a se infectar?
- 2. Como a estrutura viral facilita a disseminação do vírus no corpo e a transmissão para outras pessoas?
- 3. Que tipo de imunidade é protetor para o vírus e por que o bebê não estava protegido?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Picornavírus

Palavras-gatilho

Poliomielite: paralisia flácida, doença major e minor, fecal-oral

Coxsackievírus A: doenças vesiculares, meningite; coxsackievírus B (corpo): pleurodinia, miocardite

Outros ecovírus e enterovírus: o mesmo que para os coxsackievírus

Rinovírus: resfriado comum, ácido-lábil, não replica acima de 33° C

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho pequeno, capsídeo icosaédrico, genoma de RNA positivo com proteína terminal
- O genoma é suficiente para causar a infecção
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replica-se no citoplasma

Enterovírus

- Capsídeo do vírus resistente à inativação
- Doença devida à infecção lítica de tecidos-alvo importantes
- Poliomielite: infecção citolítica de neurônios motores do corno anterior da medula e do tronco cerebral, paralisia
- Coxsackievírus A: herpangina, doença mãos-pés-e-boca, resfriado comum, meningite
- Coxsackievírus B: pleurodinia, miocardite neonatal, diabetes tipo 1

Rinovírus

- Ácido-lábil, não consegue replicar-se à temperatura corporal
- Restrita ao trato respiratório superior
- Resfriado comum

Epidemiologia

- Enterovírus transmitidos por via fecal-oral e aerossóis
- Rinovírus transmitidos por aerossóis e pelo contato

Diagnóstico

• Testes de imunologia (ELISA) ou análise sanguínea do genoma (RT-PCR), LCR ou outras amostras relevantes

Tratamento, Prevenção e Controle

Vacinas da poliomielite OPV e IPV

Picornaviridae é uma das maiores famílias de vírus e inclui alguns dos mais importantes vírus humanos e de animais (Quadro 46-1). Como o nome indica, são **pequenos** (*pico*) vírus de ácido ribonucleico (**RNA**) que possuem estrutura

de **capsídeo não envelopado**. A família tem mais de 230 membros divididos em nove gêneros, incluindo *Enterovirus*, *Rhinovirus*, *Hepatovirus* (vírus da hepatite A; discutido no Cap. 55), *Cardiovirus* e *Aphthovirus*. Os enterovírus são distintos dos rinovírus pela estabilidade do capsídeo em pH 3, pela temperatura ideal para crescimento, modo de transmissão e pelas doenças que provocam (Quadro 46-2).



Quadro 46-1 Picornaviridae

Enterovírus

Poliovírus tipos 1, 2 e 3

Coxsackievírus A tipos 1 a 22 e 24

Coxsackievírus B tipos 1 a 6

Ecovírus tipos 1 a 9, 11 a 27 e 29 a 34

Enterovírus 68 a 71+

Rinovírus tipos 1 a 100+

Cardiovírus

Aftovírus

Hepatovírus

Vírus da hepatite A



Quadro 46-2 Características Específicas dos Picornavírus Humanos

Vírion é um capsídeo **não envelopado, pequeno** (25 a 30 nm), **icosaédrico**, que encerra um genoma de RNA positivo de fita simples.

Enterovírus são resistentes a uma faixa de pH de 3 a 9, detergentes, tratamento brando de esgoto e calor.

Rinovírus são lábeis em pH ácido; a temperatura de crescimento ideal é de 33° C.

O genoma é um ácido ribonucleico mensageiro (RNAm).

Genoma purificado é suficiente para infecção.

O vírus replica-se no citoplasma.

O RNA viral é traduzido em poliproteína, a qual, a seguir, é clivada, originando proteínas estruturais e enzimas.

A maioria dos vírus é citolítica.

Existem pelo menos 90 sorotipos de enterovírus humanos, classificados como poliovírus, coxsackievírus A e B, ecovírus, ou no que diz respeito aos vírus descobertos mais recentemente, como enterovírus numerados (p. ex., enterovírus 68). Diversas síndromes podem ser causadas por um sorotipo específico de enterovírus. Similarmente, diferentes sorotipos podem ocasionar a mesma doença, dependendo do tecido-alvo afetado.

Os capsídeos dos enterovírus são *muito resistentes a condições ambientais severas* (sistemas de esgoto) e condições no trato gastrointestinal, o que facilita sua transmissão pela rota fecal-oral. Embora possam iniciar infecção no trato gastrointestinal, os enterovírus raramente causam doença entérica. De fato, a maioria das infecções, em geral, é assintomática. O picornavírus mais conhecido e estudado é o poliovírus, do qual existem três sorotipos.

Os **coxsackievírus** receberam esse nome em referência à cidade de Coxsackie, no estado de Nova York, onde foram isolados pela primeira vez. São divididos em dois grupos, A e B, com base em certas diferenças biológicas e antigênicas. São ainda subdivididos em sorotipos numerados com base em diferenças antigênicas adicionais.

O nome **ecovírus** é derivado de *enteric cytopathic human orphan virus* (vírus órfão enterocitopatogênico humano), porque inicialmente eram desconhecidas as doenças associadas a esses agentes. No entanto, desde 1967, os novos enterovírus isolados foram distinguidos numericamente.

Os **rinovírus** humanos consistem em pelo menos 100 sorotipos e são as causas principais do resfriado comum. Eles são *sensíveis a pH ácido e replicam-se mal em temperaturas acima de 33° C*. Essas propriedades usualmente limitam os rinovírus a causarem infecções do trato respiratório superior.

Estrutura

A fita positiva de RNA dos picornavírus é circundada por um **capsídeo icosaédrico** com aproximadamente 30 nm de diâmetro. O capsídeo icosaédrico possui 12 vértices pentaméricos, cada um composto de cinco unidades protoméricas de proteínas. Os protômeros são constituídos de quatro polipeptídeos do vírion (VP1 a VP4). VP2 e VP4 são gerados pela clivagem de um precursor, o VP0. O VP4 no vírion solidifica a estrutura, mas não é gerado até que o genoma seja incorporado no capsídeo. Essa proteína é liberada com a ligação do vírus ao receptor celular. Os capsídeos são estáveis na presença de calor, ácido e detergente, com exceção dos rinovírus, que são lábeis em meio ácido. A estrutura do capsídeo é tão regular que paracristais de vírions muitas vezes se formam nas células infectadas (Figs. 46-1 e 46-2).

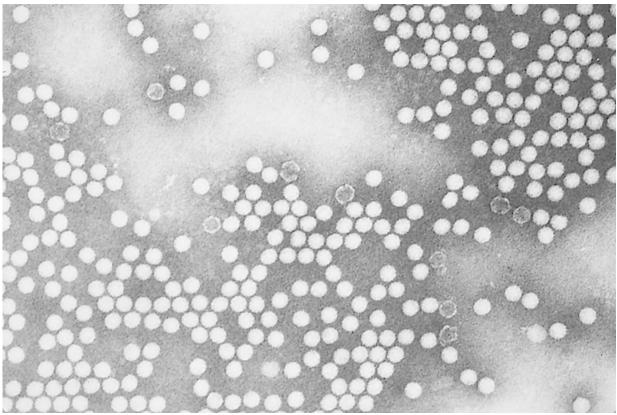


FIGURA 46-1 Micrografia eletrônica de poliovírus. (Cortesia dos Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)

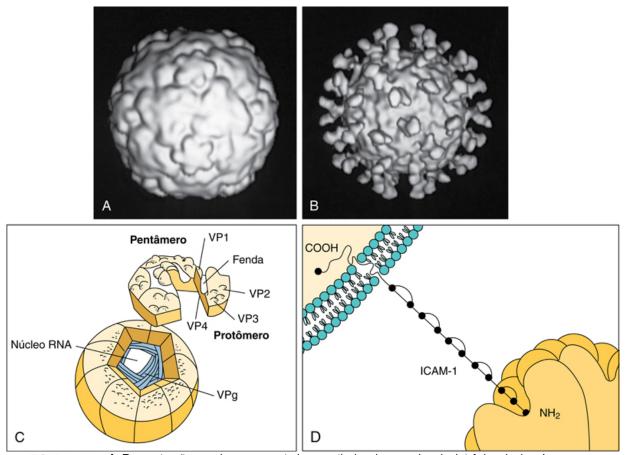


FIGURA 46-2 A, Reconstrução gerada por computador a partir de microscopia crioeletrônica de rinovírus humano 16. B, Reconstrução a partir de microscopia crioeletrônica da interação de uma forma solúvel da molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) com o rinovírus humano 16. Nota: Existe uma ICAM-1 por capsômero. C, Estrutura do rinovírus humano e da sua interação com ICAM-1 na célula alvo. D, Ligação da molécula ICAM-1 na fenda do vírion desencadeia a abertura do capsídeo para a liberação do genoma para dentro da célula. RNA, Ácido ribonucleico; VP1, 2, 3, 4, proteínas virais 1, 2, 3, 4; VPg, proteína viral ligada ao genoma. (A e B, Cortesia de Tim Baker, Purdue University, West Lafayette, Ind.)

O genoma dos picornavírus assemelha-se a um RNA mensageiro (RNAm) (Fig. 46-3). Trata-se de uma fita simples de RNA de sentido positivo, de cerca de 7.200 a 8.450 bases, e tem sequência poliA (poliadenosina) na extremidade 3' e uma proteína pequena, VPg (proteína viral ligada ao genoma; 22 a 24 aminoácidos) na extremidade 5'. A sequência poliA aumenta a infectividade do RNA, e a VPg é importante no empacotamento do genoma no capsídeo e na iniciação da síntese de RNA viral. O genoma dos picornavírus descobertos é suficiente para infectar, se microinjetado em uma célula.

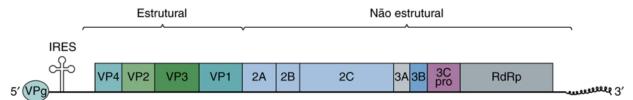


FIGURA 46-3 Estrutura do genoma do picornavíru. O genoma (7.200 a 8.400 bases) é traduzido como uma poliproteína que é clivada por proteases codificadas pelo vírus em proteínas individuais. *Genes virais*: *VP1*, 2, 3, 4, proteínas do capsídeo 1, 2, 3, 4; 2A faz a clivagem de elF4g para inibir a síntese de proteínas do hospedeiro; 2B, 2C, 3A, 3B geram proteínas de ligação à membrana, formadoras de vesículas que facilitam a replicação; 3B também codifica a proteína de ligação ao genoma VPg; 3Cpro, protease; *RdRp*, polimerase de RNA dependente de RNA. (Redesenhado de Whitton JL, Cornell CT, Feuer R: Host and virus determinants of picornavirus pathogenesis and tropism. *Nat Rev Microbiol* 3:765–776, 2005.)

O genoma codifica uma poliproteína, que é clivada proteoliticamente por proteases codificadas por vírus para produzir enzimas e proteínas estruturais do vírus. Além das proteínas do capsídeo e VPg, os picornavírus codificam pelo menos duas proteases e uma RNA polimerase RNA-dependente.

Replicação

A especificidade da interação dos picornavírus com os receptores celulares é o principal fator determinante do tropismo pelo tecido-alvo e da doença (Cap. 36, Fig. 36-12). As proteínas VP1 nos vértices do vírion contêm estrutura em fenda (canyon) à qual o receptor se liga. Pleconaril e compostos antivirais correlacionados contêm um grupo 3-metilisoxazol que se liga ao asoalho dessa fenda e altera sua conformação para impedir o desencapsidamento do vírus.

Os picornavírus podem ser categorizados de acordo com a especificidade dos seus receptores na superfície celular. Osreceptores para poliovírus, alguns coxsackievírus e rinovírus são membros da superfamília de proteínas das imunoglobulinas. Pelo menos 80% dos rinovírus e vários sorotipos de coxsackievírus se ligam à molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), expressa em células epiteliais, fibroblastos e células endoteliais. Vários coxsackievírus, ecovírus e outros enterovírus se ligam ao fator acelerador de decaimento (CD55) e o coxsackievírus B compartilha um receptor com o adenovírus. O poliovírus se liga a uma molécula diferente (PVR/CD155) semelhante ao receptor para HSV. O receptor para poliovírus está presente em muitas células humanas diferentes, mas nem todas replicarão o vírus.

Com a ligação ao receptor, o VP4 é liberado e o capsídeo, enfraquecido. O genoma é então injetado diretamente através da membrana por um canal criado pela proteína VP1 em um dos vértices do vírion. O genoma se liga diretamente aos ribossomos, apesar da falta da estrutura *cap* 5′. Os ribossomos reconhecem uma alça de RNA interna única no genoma (ponto de entrada ribossômica [IRES, *internal ribosome entry site*]), que também está presente em alguns RNAm celulares. Uma **poliproteína** contendo todas as sequências de proteínas virais é sintetizada 10 a 15 minutos após a infecção. Essa poliproteína é clivada por proteases codificadas no vírus.

As proteínas virais enlaçam o genoma às membranas do retículo endoplasmático e a maquinaria para a replicação do genoma é recolhida em uma vesícula. A RNA polimerase RNA- dependente viral gera um molde de RNA de fita simples de sentido negativo a partir do qual o novo RNAm/genoma pode ser sintetizado. A quantidade de RNAm viral aumenta rapidamente na célula, com o número de moléculas de RNA viral atingindo 400.000 por célula.

A maioria dos picornavírus inibe a síntese de RNA e proteínas celulares durante a infecção. Por exemplo, clivagem da proteína capa-ligante da célula (eIF4-G) do ribossomo por uma protease de poliovírus impede que a maioria dos RNAms celulares se ligue ao ribossomo. A inibição de fatores de transcrição diminui a síntese de RNAm celular, e alterações de permeabilidade induzidas pelos picornavírus reduzem a capacidade de o RNAm celular se ligar ao ribossomo. Além disso, o RNAm viral pode competir com o RNAm celular pelos fatores requeridos para síntese de proteína. Essas atividades contribuem para o efeito citopático do vírus sobre a célula-alvo.

Enquanto o genoma viral está sendo replicado e traduzido, as proteínas estruturais VP0, VP1 e VP3 são clivadas da poliproteína por uma protease codificada pelo vírus e montadas em subunidades. Cinco **subunidades** se associam em **pentâmeros** e 12 **pentâmeros** se associam para formar o **procapsídeo**. Após a inserção do genoma, VP0 é clivada em VP2 e VP4 para completar o **capsídeo**. Até 100.000 vírions por célula podem ser produzidos e liberados com a lise celular. O ciclo de replicação completo pode ser de 3-4 horas.

Enterovírus

Contrariamente ao seu nome, os enterovírus geralmente não causam doença entérica, mas se replicam no intestino e são transmitidos pela rota fecal-oral. As doenças produzidas pelos enterovírus são determinadas principalmente por diferenças no tropismo tecidual e na capacidade citolítica dos vírus (Fig. 46-4; Quadro 46-3). Os vírions não são afetados pelo ácido gástrico, proteases e bile. Os enterovírus são adquiridos através do trato respiratório superior e da boca. A replicação viral é iniciada na mucosa e no tecido linfoide de amígdalas e faringe, e, mais tarde, o vírus infecta células M, linfócitos das placas de Peyer e enterócitos na mucosa intestinal. A viremia primária dissemina o vírus aos tecidos-alvo que possuem receptores, incluindo as células reticuloendoteliais de linfonodos, baço e fígado, para iniciar uma segunda fase de replicação viral, que resulta em viremia secundária e sintomas.

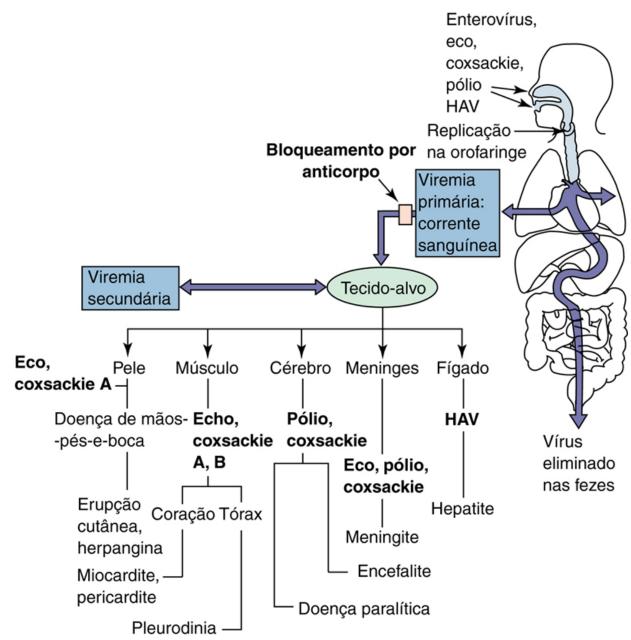


FIGURA 46-4 Patogênese da infecção por enterovírus. O tecido-alvo infectado pelo enterovírus determina a doença predominante causada pelo vírus. *Coxsackie*, Coxsackievírus; *eco*, ecovírus; *HAV*, vírus da hepatite A; *pólio*, poliovírus.



Quadro 46-3 Mecanismos Patológicos dos Picornavírus

Os enterovírus entram pela orofaringe, pela mucosa intestinal ou pelo trato respiratório superior e infectam o tecido linfático subjacente; os rinovírus são restritos ao trato respiratório superior.

Na ausência de anticorpo sérico, os enterovírus se disseminam por viremia às células de um tecido-alvo que apresenta receptores.

Diferentes picornavírus se ligam a diferentes receptores, muitos dos quais são membros da superfamília das imunoglobulinas (isto é, molécula de adesão intercelular-1).

O tecido-alvo infectado determina a doença subsequente.

Os efeitos patológicos virais, em vez de imunes, são geralmente responsáveis por causar doença.

A resposta de anticorpo secretório é transitória, mas pode impedir o início da infecção.

Anticorpo sérico bloqueia a disseminação virêmica ao tecido-alvo, impedindo a doença.

O enterovírus é eliminado nas fezes durante longos períodos.

A infecção é frequentemente assintomática ou causa doença branda, semelhante à gripe, ou doença no trato respiratório superior.

A maioria dos enterovírus é citolítica, replicando-se rapidamente e causando dano direto à célula-alvo.

No caso dos poliovírus, o vírus ganha acesso ao cérebro infectando o músculo esquelético e viajando pelos nervos que o inervam até o cérebro, semelhante ao vírus da raiva (Cap. 50). O vírus é citolítico para os neurônios motores do corno anterior e tronco cerebral. A localização e o número de células nervosas destruídas pelo vírus determinam a extensão da paralisia e se/quando outros neurônios podem reinervar o músculo e restaurar a atividade. A perda combinada de neurônios para a pólio e a idade avançada podem resultar em paralisia mais tarde na vida, chamada síndrome pós-pólio.

A eliminação de vírus pela orofaringe pode ser detectada durante curto período de tempo antes que os sintomas apareçam, enquanto a produção viral e sua liberação pelo intestino podem durar 30 dias ou mais, mesmo na presença de resposta imune humoral.

A produção de anticorpos é a principal resposta imune protetora contra os enterovírus. Anticorpos secretórios podem prevenir o estabelecimento inicial de infecção na orofaringe e no trato gastrointestinal, e anticorpos séricos evitam a disseminação virêmica para o tecido-alvo e, portanto, a doença. A evolução cronológica do desenvolvimento de anticorpos depois da infecção com vacina viva está apresentada na Figura 46-10 (ver posteriormente). A imunidade celular geralmente não está envolvida na proteção, mas pode desempenhar papel na resolução e na patogênese.

Epidemiologia

Os enterovírus são exclusivamente patógenos humanos (Quadro 46-4). Como sugere o nome, esses vírus se disseminam principalmente pela rota **fecal-oral**. **Eliminação assintomática** pode ocorrer durante até um mês, espalhando vírus para o ambiente. Saneamento precário e condições de vida de superpovoamento favorecem a transmissão dos vírus (Fig. 46-5). Contaminação do suprimento de água por esgoto pode resultar em epidemias de enterovírus. Surtos de doença por enterovírus são observados em escolas e creches, e o verão é a principal estação para esses surtos da doença. Coxsackievírus e ecovírus também podem ser disseminados em gotículas de aerossol e causar infecções do trato respiratório.



Quadro 46-4 Epidemiologia das Infecções por Enterovírus

Doença/Fatores Virais

A natureza da doença se correlaciona com enterovírus específicos

A gravidade da doença se correlaciona com a idade do indivíduo

A infecção é frequentemente assintomática, com eliminação viral

O vírion é resistente às condições ambientais (detergentes, ácido, secagem, tratamento brando de esgoto e calor)

Transmissão

Rota fecal-oral: má higiene, fraldas sujas (especialmente em creches)

Ingestão de alimentos e água contaminados

Contato com mãos e fômites infectados

Inalação de aerossóis infecciosos

Quem Está sob Risco?

Crianças jovens: sob risco de pólio (doença assintomática ou branda)

Crianças mais velhas e adultos: sob risco de pólio (assintomática à doença paralítica)

Lactentes e neonatos: sob mais alto risco de doença grave por coxsackievírus, ecovírus e enterovírus

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus tem distribuição mundial; pólio do tipo selvagem está praticamente erradicada na maioria dos países por causa de programas de vacinação

A doença é mais comum no verão

Meios de Controle

Para pólio, administra-se vacina de pólio viva oral (OPV trivalente) ou vacina de pólio inativada (IPV) trivalente Para outros enterovírus, não há vacina; boa higiene limita a disseminação

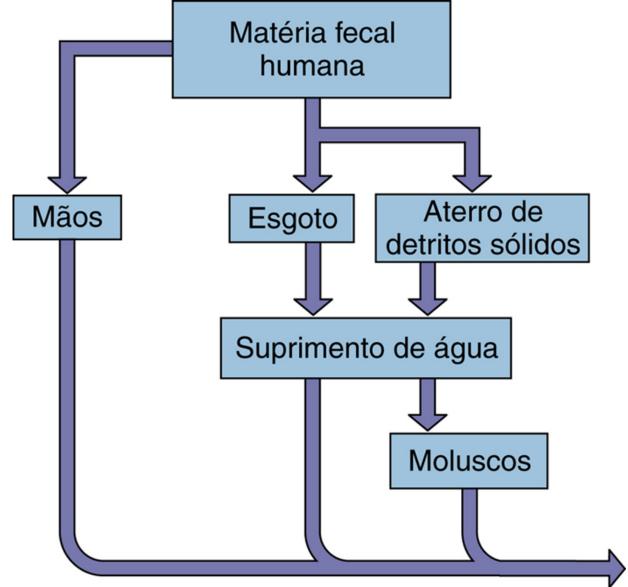


FIGURA 46-5 Transmissão de enterovírus. A estrutura do capsídeo é resistente a tratamento brando de esgoto, água salgada, detergentes e mudanças de temperatura, possibilitando que estes vírus sejam transmitidos pela rota fecal-oral, por fômites e pelas mãos.

Com o sucesso das vacinas contra a pólio, o poliovírus do tipo selvagem foi eliminado do hemisfério ocidental (Fig. 46-6), mas não do mundo todo. A pólio paralítica não foi totalmente eliminada da Nigéria, do Afeganistão e do Paquistão, e os vírus estão propagando-se a partir destes países para outros, incluindo Somália, Quénia, Etiópia, Camarões, Síria e Israel. Um pequeno mas significativo número de casos relacionados com a vacina da poliomielite resulta da mutação de uma das três estirpes do vírus presentes na vacina viva, que restabelece a neurovirulência. A alteração no gene da proteína VP1 de ligação ao receptor ocorreu por recombinação com outro enterovírus. Esse desenvolvimento levou a uma preferência no uso da vacina inativada contra a poliomielite. Os poliovírus propagam-se mais frequentemente durante o verão e o outono.

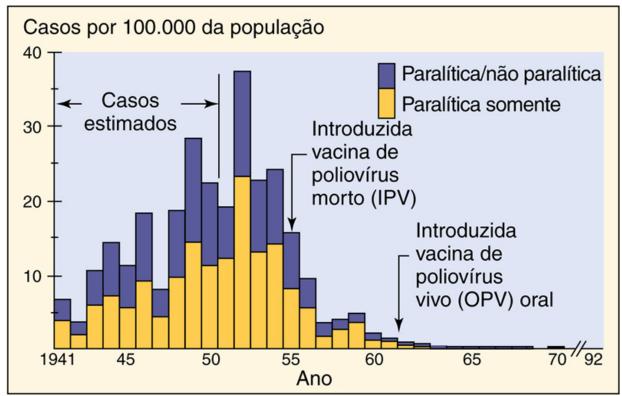


FIGURA 46-6 Incidência de pólio nos Estados Unidos. A vacina de pólio morto (inativado) (IPV) foi introduzida em 1955, e a vacina de pólio vivo oral (OPV) foi introduzida em 1961 e 1962. Pólio do tipo selvagem foi erradicada nos Estados Unidos. (Cortesia dos Centers for Disease Control and Prevention: Immunization against disease: 1972, Washington, DC, 1973, U.S. Government Printing Office.)

A pólio paralítica foi considerada doença da classe média, porque a boa higiene retardaria a exposição de uma pessoa ao vírus até a infância avançada, os anos da adolescência ou a idade adulta, quando a infecção produziria os sintomas mais graves. A infecção no início da infância é mais provável que seja assintomática ou cause doença muito branda.

Semelhante à infecção por poliovírus, a doença por coxsackievírus A geralmente é mais grave em adultos que em crianças. Entretanto, coxsackievírus B e alguns dos ecovírus (sobretudo o ecovírus 11) podem ser particularmente danosos para crianças.

Síndromes Clínicas

As síndromes clínicas produzidas pelos enterovírus são determinadas por vários fatores, incluindo (1) sorotipo viral, (2) dose infectante, (3) tropismo tecidual, (4) porta de entrada, (5) idade, gênero e estado de saúde do paciente, e (6) gravidez (Tabela 46-1). O período de incubação nas doenças causadas por enterovírus varia de 1-35 dias, dependendo do vírus, do tecido-alvo e da idade da pessoa. Os vírus que afetam os pontos orais e respiratórios têm períodos de incubação mais curtos.



Resumo das Síndromes Clínicas Associadas aos Principais Grupos de Enterovírus*

Síndrome	Ocorrência	Poliovírus	Coxsackievírus A	Coxsackievírus B	Eco/Enterovírus [†]
Assimtomática	Frequente	+	+	+	+
Doença paralítica	Esporádica	+	+	+	+ (entero68)
Encefalite, meningite	Surtos	+	+	+	+
Cardite	Esporádica		+	+	+
Doença neonatal	Surtos			+	+
Pleurodinia	Surtos			+	
Herpangina	Comum		+		
Doença de mãos-pés-e-boca	Comum		+		
Doença eruptiva	Comum		+	+	+
Conjuntivite hemorrágica aguda	Epidêmica		+		+ (entero70)
Infecções do trato respiratório	Comum	+	+	+	+
Febre indiferenciada	Comum	+	+	+	+
Diarreia, doença gastrointestinal	Incomum				+
Diabetes, pancreatite	Incomum			+	
Orquite	Incomum			+	

^{*} Um membro dessa família causa essa doença.

Infecções por Poliovírus

Existem três tipos de poliovírus; o tipo 1 causa 85% dos casos de pólio paralítica. A reversão à virulência dos vírus vacinais atenuados dos tipos 2 e 3 pode provocar doença associada com vacina. Infecções por pólio do tipo selvagem são raras, em razão do sucesso das vacinas contra pólio (Fig. 46-6). Entretanto, como assinalado anteriormente, casos de pólio associados com vacina ocorrem, e algumas populações permanecem sem se vacinar, colocando-se em risco de infecção. O poliovírus pode causar um dos quatro resultados seguintes em pessoas não vacinadas, dependendo da progressão da infecção (Fig. 46-7):

1. **Doença assintomática** resulta se a infecção viral for limitada à orofaringe e ao intestino. Pelo menos 90% das infecções por poliovírus são assintomáticas.

[†] Enterovírus 68 a 71 + .

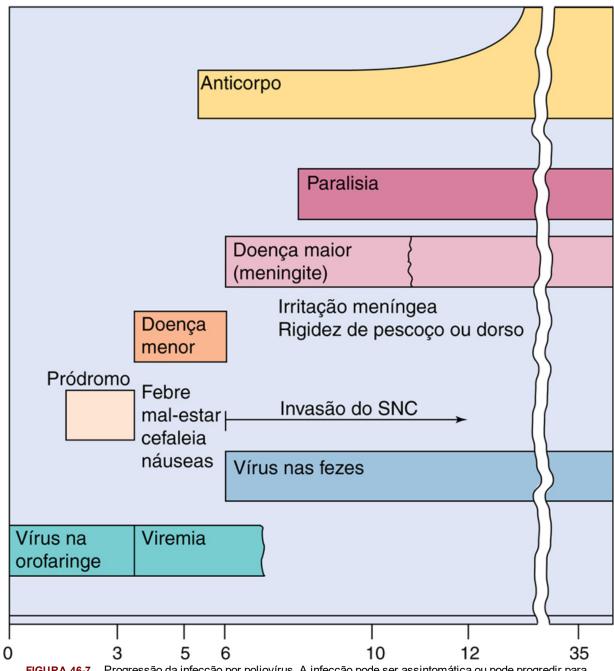


FIGURA 46-7 Progressão da infecção por poliovírus. A infecção pode ser assintomática ou pode progredir para doença menor ou maior. *SNC*, Sistema nervoso central.

- 2. **Poliomielite abortiva**, a **doença menor**, é uma doença febril inespecífica que ocorre em aproximadamente 5% das pessoas infectadas. Febre, dor de cabeça, mal-estar, dor de garganta e vômito acometem essas pessoas dentro de 3-4 dias da exposição.
- 3. **Poliomielite não paralítica** ou **meningite asséptica** ocorre em 1% a 2% dos pacientes com infecções por poliovírus. Nessa doença, o vírus progride para o sistema nervoso central e as meninges, causando dor nas costas e espasmos musculares, além dos sintomas da doença menor.
- 4. **Pólio paralítica**, a **doença maior**, ocorre em 0,1% a 2% das pessoas com infecções por poliovírus e é o resultado mais grave. Aparece 3-4 dias depois que a doença menor regrediu, produzindo enfermidade bifásica. Nessa doença, o vírus se dissemina do sangue para as células do corno anterior da medula espinal e para o córtex motor do cérebro. A gravidade da paralisia é determinada pela extensão da infecção neuronal e pelos neurônios afetados. A paralisia espinal pode comprometer um ou mais membros, enquanto a paralisia bulbar (craniana) pode envolver uma combinação de nervos cranianos e mesmo o centro respiratório medular.

A poliomielite paralítica é caracterizada por uma paralisia flácida assimétrica, sem perda sensitiva. O grau de paralisia varia pelo fato de que pode envolver apenas alguns grupos musculares (p. ex., uma perna), ou pode haver paralisia flácida completa de todas as quatro extremidades. A paralisia pode progredir durante os primeiros dias e resultar em recuperação completa, paralisia residual ou morte. A maioria das recuperações ocorre dentro de seis meses, mas até dois anos podem ser necessários para remissão completa.

A **poliomielite bulbar** pode ser mais grave, envolvendo os músculos da faringe, as cordas vocais e da respiração, além de resultar na morte de 75% dos pacientes. Pulmões de aço e câmaras que forneciam compressão respiratória externa foram

usados nos anos 1950 para assistir a respiração de pacientes com essa poliomielite. Antes dos programas de vacinação, pulmões de aço enchiam as enfermarias dos hospitais infantis.

A **síndrome pós-pólio** é uma sequela da poliomielite que pode ocorrer muito mais tarde na vida (30 a 40 anos mais tarde) em 20% a 80% das vítimas originais. A pessoa afetada sofre deterioração dos músculos originalmente afetados. O poliovírus não está presente, mas admite-se que a síndrome resulte na perda de neurônios dos nervos inicialmente afetados.

Infecções por Coxsackievírus e Ecovírus

Várias síndromes clínicas podem ser causadas por coxsackievírus ou ecovírus (p. ex., meningite asséptica), mas certas enfermidades são especificamente associadas a coxsackievírus. O coxsackievírus A é associado a doenças envolvendo lesões vesiculares (p. ex., herpangina), enquanto o coxsackievírus B (**B**, **de** *body*, "corpo") são mais frequentemente associados a miocardite e pleurodinia. Os coxsackievírus e enterovírus 68 também podem ocasionar doença paralítica semelhante à pólio (Caso Clínico 46-1). O resultado mais comum da infecção é a ausência de sintomas ou doença branda do trato respiratório superior ou sintomas semelhantes aos da gripe.



Caso Clínico 46-1 Doença Semelhante à Pólio por Coxsackievírus A

Num caso relatado por Yoshimura e Kurashige (*Brain Dev* 20:540-542, 1998), um paciente de 4 anos foi admitido no hospital em consequência de sintomas de dor e distensão abdominais, inabilidade para urinar e incapacidade para andar. Ele perdera todos os reflexos abdominais e apresentava disfunção da bexiga e do reto. A sensibilidade à dor e ao calor estava normal. O líquido cefalorraquidiano (LCR) mostrou aumento na contagem de células, 393 células/mm³, com 95% de neutrófilos e 5% de linfócitos. A proteína e a glicose do LCR estavam dentro dos valores normais. A análise sorológica foi negativa para poliovírus, ecovírus e coxsackievírus tipos A4, A7, A9, B1 e B5, vírus relatados como causadores da doença paralítica semelhante à poliomielite. Anticorpos contra o coxsackievírus A10 foram detectados durante a fase aguda (título = 32) e após quatro semanas (título = 128). Três semanas após a admissão, o paciente podia andar novamente, mas as disfunções brandas da bexiga e do reto permaneceram, mesmo três meses após a admissão. Ainda que a imunização rotineira tenha eliminado a paralisia induzida por pólio na maior parte do mundo, doenças semelhantes à pólio podem ser causadas por outros picornavírus e por reversão às formas virulentas de cepas relacionadas com vacina.

A herpangina é provocada por vários tipos de vírus coxsackie A e não é relacionada com infecção por herpes-vírus. Febre, dor de garganta, dor à deglutição, anorexia e vômito caracterizam essa doença. O achado clássico são lesões vesiculares ulceradas em torno do palato mole e da úvula (Fig. 46-8). Menos tipicamente, as lesões afetam o palato duro. O vírus pode ser recuperado das lesões ou das fezes. A doença é autolimitada e necessita apenas de tratamento sintomático.

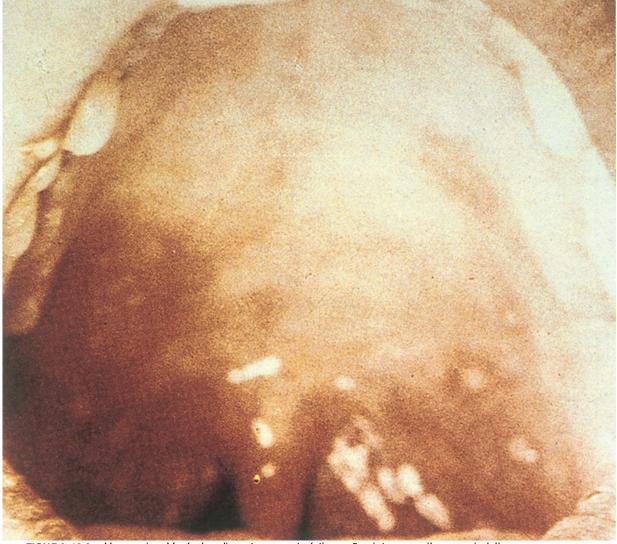


FIGURA 46-8 Herpangina. Vesículas discretas características são vistas nos pilares amigdalianos anteriores. (Cortesia do Dr. GDW McKendrick; de Lambert HP et al: *Infectious diseases illustrated*, London, 1982, Gower.)

A **doença de mãos-pés-e-boca** é um exantema vesicular geralmente causado por coxsackievírus A16. O nome é descritivo porque os principais aspectos dessa infecção consistem em lesões vesiculares em mãos, pés, boca e língua (Fig. 46-9). O paciente apresenta febre branda, e a enfermidade regride em poucos dias.



FIGURA 46-9 Doença de mãos-pés-e-boca causada pelo coxsackievírus A. As lesões aparecem inicialmente na cavidade oral e, então, desenvolvem-se dentro de um dia nas palmas e, como visto aqui, nas plantas dos pés. (De Habif TP: Clinical dermatology: a color guide to diagnosis and therapy, ed 3, St Louis, 1996, Mosby.)

A pleurodinia (doença de Bornholm), também conhecida como agarrão do diabo, é uma doença aguda na qual os pacientes têm início súbito de febre e dor torácica baixa unilateral, dor pleurítica que pode ser excruciante. Dor abdominal e mesmo vômito também podem ocorrer, e os músculos no lado comprometido podem estar extremamente sensíveis à palpação. A pleurodinia dura, em média, quatro dias, mas pode recidivar depois de a condição permanecer assintomática por vários dias. O coxsackievírus B é o agente causador.

As infecções miocárdicas e pericárdicas causadas por coxsackievírus B ocorrem esporadicamente em crianças mais velhas e adultos, porém são mais ameaçadoras em recém-nascidos. Os neonatos com essas infecções têm doença febril e início súbito e inexplicado de insuficiência cardíaca. Cianose, taquicardia, cardiomegalia e hepatomegalia também podem ocorrer. A mortalidade associada à infecção é alta, e a autópsia revela tipicamente o comprometimento de outros sistemas de órgãos, incluindo cérebro, fígado e pâncreas. Pericardite aguda benigna afeta adultos jovens, porém pode ser vista em pessoas mais velhas. Os sintomas se assemelham aos do infarto do miocárdio com febre.

A meningite viral (asséptica) é uma doença febril aguda acompanhada por cefaleia e sinais de irritação meníngea, incluindo rigidez de nuca. Petéquias ou exantema podem ocorrer em pacientes com meningite enteroviral. A recuperação usualmente é tranquila, a menos que a enfermidade seja associada a encefalite (meningoencefalite) ou acometa crianças com menos de 1 ano. Surtos de meningite por picornavírus (ecovírus 11) acontecem a cada ano no verão e no outono.

Febre, erupção e sintomas semelhantes aos do resfriado comum podem ocorrer em pacientes infectados com ecovírus ou coxsackievírus. A erupção é, em geral, maculopapular, mas pode ocasionalmente ser petequial ou mesmo vesicular. O tipo petequial da erupção pode ser confundido com a erupção da meningococemia, que é uma ameaça à vida e exige tratamento obrigatório. As doenças por enterovírus costumam ser menos intensas para a criança do que a meningococemia. Coxsackievírus A21 e A24 e os ecovírus 11 e 20 podem causar sintomas semelhantes aos dos rinovírus, parecendo com o resfriado comum.

Outras Doenças Causadas por Enterovírus

O enterovírus 70 e uma variante do coxsackievírus A24 foram associados com doença ocular extremamente contagiosa, a **conjuntivite hemorrágica aguda**. A infecção causa hemorragias subconjuntivais e conjuntivite. A doença tem um período de incubação de 24 horas e resolve dentro de 1-2 semanas. Algumas cepas de coxsackievírus B e ecovírus podem ser transmitidas ao feto por via transplacentária. A infecção do feto ou de um bebê por esta ou outra via pode produzir doença

disseminada grave. Infecções das células beta do pâncreas por coxsackievírus B são a principal causa do **diabetes insulinodependente tipo 1**, como resultado da destruição imunitária das ilhotas de Langerhans.

Diagnóstico Laboratorial

Bioquímica Clínica

O líquido cefalorraquidiano (LCR) na meningite asséptica por enterovírus pode ser distinguido da meningite bacteriana. O LCR não apresenta neutrófilos e o nível de glicose é geralmente normal ou levemente baixo. A concentração de proteína no LCR é de normal a levemente elevada. O LCR raramente é positivo para o vírus.

Cultura

Os poliovírus podem ser isolados da faringe do paciente durante os primeiros dias de doença, das fezes, até 30 dias, mas raramente do LCR. O vírus cresce bem em cultura de tecido do rim de macaco. Coxsackievírus e ecovírus geralmente podem ser isolados da garganta e das fezes durante a infecção e, muitas vezes, do LCR, em pacientes com meningite. O vírus raramente é isolado de pacientes com miocardite, porque os sintomas ocorrem várias semanas após a infecção inicial. O coxsackievírus B pode ser cultivado em células primárias de rim de macaco ou de embrião humano. Entretanto, muitas amostras de coxsackievírus A não crescem em cultura de tecido, mas podem ser cultivadas em camundongos lactentes.

Estudos de Genoma e Sorologia

O tipo exato de enterovírus pode ser determinado por meio do uso de ensaios específicos de anticorpo e antígeno (p. ex., neutralização, imunofluorescência, ensaio imunoabsorvente ligado a enzima) ou detecção de RNA viral por reação em cadeia da polimerase após o uso da transcriptase reversa (RT-PCR). A RT-PCR de amostras clínicas se tornou um método rápido e de rotina para detectar a presença ou distinguir um enterovírus específico, dependendo dos *primers* utilizados. RT-PCR tornou-se especialmente importante para confirmar o diagnóstico de meningite por ecovírus 11 em bebês.

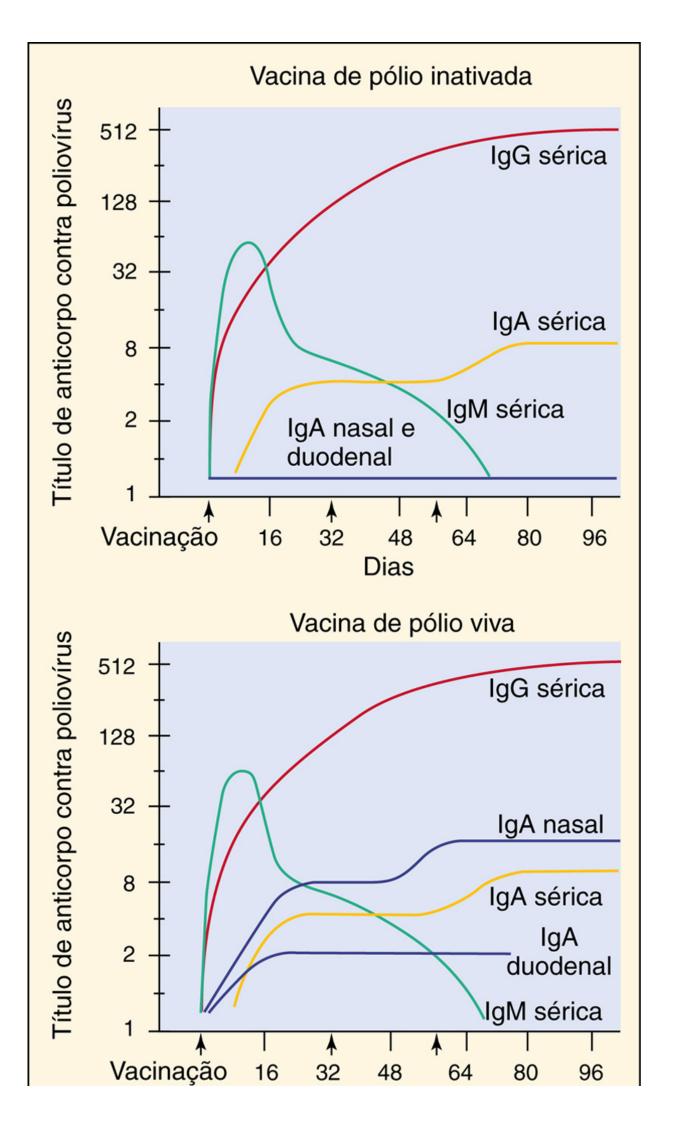
A sorologia pode ser usada para confirmar infecções por enterovírus por meio da detecção de imunoglobulina (Ig)M específica ou de aumento de quatro vezes no título de anticorpos entre o momento da doença aguda e o período de convalescença. Essa abordagem pode não ser prática para a detecção de ecovírus e coxsackievírus, em razão de seus numerosos sorotipos, a não ser que se suspeite de um vírus específico.

Tratamento, Prevenção e Controle

O pleconaril está disponível de modo limitado. Esse medicamento inibe a penetração do picornavírus nas células e deve ser administrado precocemente no curso da infecção.

A prevenção da poliomielite paralítica é um dos triunfos da medicina moderna. Em 1979, as infecções pelo poliovírus do tipo selvagem desapareceram dos Estados Unidos, com o número de casos de pólio diminuindo de 21.000 por ano, na era pré-vacina, para 18 em pacientes não vacinados em 1977. Como no caso da varíola, a erradicação da pólio foi estabelecida como objetivo. A assistência à saúde nos países em desenvolvimento é mais difícil, e por esta razão a doença viral do tipo selvagem ainda existe na África, no Oriente Médio e na Ásia. Desinformação, má compreensão e inquietação política na África e em outras partes do mundo também limitaram a aceitação da vacina contra a pólio. Novos programas mundiais de vacinação vêm sendo elaborados para alcançar esse objetivo.

Os dois tipos de vacina de poliovírus são (1) vacina de pólio inativada (IPV), desenvolvida por Jonas Salk, e (2) vacina de pólio oral atenuada viva (OPV), desenvolvida por Albert Sabin. Ambas as vacinas incorporam as três cepas de pólio, são estáveis, relativamente baratas e induzem uma resposta de anticorpo protetora (Fig. 46-10). A IPV provou ser eficaz em 1955, mas a vacina oral tomou seu lugar por ser barata, fácil de administrar, limitar a produção e a transmissão do vírus e induzir imunidade durante toda a vida e imunidade da mucosa (Tabela 46-2).



Dias

FIGURA 46-10 Resposta de anticorpo sérico e secretório à inoculação intramuscular da vacina de pólio inativado (IPV) e à vacina de pólio vivo atenuado, administrada oralmente (OPV). Observe-se a presença de IgA secretória induzida pela OPV. *Ig*, imunoglobulina. (Modificada de Ogra P, Fishaut M, Gallagher MR: Viral vaccination via the mucosal routes, *Rev Infect Dis* 2:352–369, 1980. Copyright 1980, University of Chicago Press.)



Tabela 46-2

Vantagens e Desvantagens das Vacinas contra Pólio

Vacina	Vantagens	Desvantagens
Vacina contra pólio oral viva (OPV)	Eficaz Imunidade por toda a vida Indução de resposta de anticorpo secretório similar à da infecção natural Impede a propagação do vírus nas fezes A disseminação de vírus atenuado entre os contatos promove a imunização indireta Barata e fácil de administrar Não é necessária a repetição da vacina de reforço Imunidade de rebanho	Risco de poliomielite associada a vacina nos receptores ou em seus contatos; disseminação de vacina aos contatos sem o seu consentimento Administração sem segurança em pacientes imunodeficientes
Vacina de pólio inativada (IPV)	Eficaz Boa estabilidade durante o transporte e no armazenamento Administração segura em pacientes imunodeficientes Nenhum risco de doença relacionada com a vacina	Ausência de indução de anticorpo secretório A vacina de reforço é necessária para a imunidade durante toda a vida Requer seringas e agulhas estéreis Injeção mais dolorosa que a administração oral Necessários níveis mais altos de imunização da comunidade do que com a vacina viva Não impede a replicação e a propagação do vírus a partir do trato gastrointestinal

Na ausência de poliovírus do tipo selvagem, a IPV tem menos potencial para desencadear doença relacionada com a vacina e constitui a vacina de eleição para a vacinação de rotina. As crianças devem receber a IPV aos 2 meses, 4 meses e 15 meses e, em seguida, entre os 4 e os 6 anos.

A OPV foi atenuada (isto é, tornada menos virulenta) pela passagem em culturas de células humanas ou de macaco. A atenuação produziu um vírus capaz de replicar-se na orofaringe e no trato intestinal, mas incapaz de infectar células neuronais. A vacina provoca a produção de IgA e IgG, que podem cessar a propagação do vírus para o intestino, bem como a partir deste último, assim como pode cessar a propagação do vírus no interior do corpo. Uma virtude adicional da cepa vacinal viva é o fato de ser eliminada nas fezes durante semanas e disseminada aos contatos próximos. A disseminação imunizará ou reimunizará os contatos próximos, assim promovendo imunização em massa. Em resposta à detecção do poliovírus do tipo selvagem no esgoto em 2013, Israel retomou as imunizações com OPV para garantir que a transmissão da poliomielite também seja impedida. Os principais inconvenientes da vacina viva são (1) a possibilidade de o vírus vacinal infectar uma pessoa imunologicamente comprometida, e (2) um potencial remoto para o vírus reverter à sua forma virulenta e causar doença paralítica (uma por quatro milhões de doses administradas *versus* uma em 100 pessoas infectadas com o poliovírus do tipo selvagem).

Não há vacinas para coxsackievírus ou ecovírus. A transmissão desses vírus presumivelmente pode ser reduzida por melhorias na higiene e nas condições de vida. Os enterovírus são impérvios aos desinfetantes e detergentes mais comuns, mas podem ser inativados por formaldeído, hipoclorito e cloro.

Rinovírus

Os rinovírus são a causa mais importante do **resfriado comum** e de infecções do trato respiratório superior. Essas infecções, no entanto, são autolimitadas e não causam doença grave. Mais de 100 sorotipos de rinovírus já foram identificados. Pelo menos 80% dos rinovírus têm um receptor comum que também é usado por alguns dos coxsackievírus. Esse receptor foi identificado como ICAM-1, um membro da superfamília das imunoglobulinas, que é expresso em células epiteliais, fibroblastos e células B- linfoblastoides.

Patogênese e Imunidade

Diferentemente dos enterovírus, os rinovírus são incapazes de se replicar no trato gastrointestinal (Quadro 46-3). Os rinovírus são sensíveis ao pH ácido. Além disso, crescem melhor a 33° C, uma característica que contribui para a sua

preferência pelo ambiente mais frio da mucosa nasal. A infecção pode ser iniciada por apenas uma partícula viral infecciosa. Durante o pico da doença, as secreções nasais contêm concentrações de 500 a 1.000 vírions infecciosos por mililitro. O vírus entra através do nariz, da boca ou dos olhos e inicia a infecção do trato respiratório superior, inclusive a garganta. A maior parte da replicação viral ocorre no nariz, e o início e a gravidade dos sintomas se correlacionam com o tempo de eliminação viral e a quantidade (título) de vírus produzido. As células infectadas liberam bradicinina e histamina, as quais causam o "corrimento nasal".

O interferon, gerado em resposta à infecção, pode limitar a progressão da infecção e contribuir para os sintomas. Curiosamente, a liberação de citocinas durante a inflamação pode promover a disseminação do vírus ao aumentar a expressão de receptores virais ICAM-1.

A imunidade aos rinovírus é transitória e provavelmente não impede infecção subsequente, por causa dos numerosos sorotipos do vírus. Tanto o anticorpo IgA secretório nasal quanto o IgG sérico são induzidos por infecção primária por rinovírus e podem ser detectados dentro de uma semana da infecção. A resposta de IgA secretória dissipa-se rapidamente, e a imunidade começa a diminuir cerca de 18 meses após a infecção. A imunidade celular provavelmente não desempenha papel importante no controle de infecções por rinovírus.

Epidemiologia

Os rinovírus ocasiona, pelo menos, metade de todas as infecções do trato respiratório superior (Quadro 46-5). Outros agentes que podem causar os sintomas do resfriado comum são enterovírus, coronavírus, adenovírus e vírus parainfluenza. Os rinovírus podem ser transmitidos por dois mecanismos: como aerossóis e em fômites (p. ex., pelas mãos ou sobre objetos inanimados contaminados). As mãos parecem constituir o principal vetor, e o contato direto de pessoa a pessoa é o modo predominante de disseminação. Esses vírus não envelopados são extremamente estáveis e podem sobreviver nesses objetos durante muitas horas.



Quadro 46-5 Epidemiologia das Infecções por Rinovírus

Doença/Fatores Virais

O vírion é resistente a secagem e detergentes Múltiplos sorotipos impedem imunidade prévia

A replicação ocorre à temperatura ótima de 33° C e a temperaturas mais baixas

Transmissão

Contato direto por mãos e fômites infectados Inalação de gotículas infecciosas

Quem Está sob Risco?

Pessoa de todas as idades

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo

A doença é mais comum no início do outono e no fim da primavera

Meios de Controle

Lavagem das mãos e desinfecção de objetos contaminados ajudam a evitar a disseminação

Os rinovírus produzem doença clínica em apenas metade das pessoas infectadas. Pessoas assintomáticas também são capazes de disseminar o vírus, apesar de poderem produzir menor quantidade dele.

Os "resfriados" por rinovírus ocorrem frequentemente no começo do outono e no fim da primavera em pessoas vivendo nos climas temperados. Isto pode refletir padrões sociais (p. ex., retorno à escola e à creche) em vez de qualquer alteração no próprio vírus.

As taxas de infecção são mais altas em lactentes e crianças. As crianças de menos de dois anos "compartilham" seus resfriados com a família. Infecções secundárias ocorrem em torno de 50% dos membros da família, em especial em outras crianças.

Muitos sorotipos diferentes de rinovírus podem ser encontrados em uma comunidade durante uma estação específica de frio, mas as cepas predominantes geralmente são os sorotipos recém-identificados. Esse padrão indica a existência de uma variação antigênica gradual (mutação), semelhante à observada no vírus influenza.

Síndromes Clínicas (Quadro 46-6)

Os sintomas do resfriado comum causado por rinovírus não podem ser facilmente distinguidos daqueles ocasionados por outros patógenos respiratórios virais (p. ex., enterovírus, paramixovírus, coronavírus). Uma infecção do trato respiratório superior geralmente começa com espirros, o que é logo seguido por rinorreia (corrimento nasal). A rinorreia aumenta e é

então acompanhada por sintomas de obstrução nasal. Também há dor de garganta moderada, juntamente com cefaleia e mal-estar, mas, em geral, sem febre. A doença chega ao ápice em 3-4 dias, mas a tosse e os sintomas nasais podem persistir por 7-10 dias ou mais.



Quadro 46-6 Resumos Clínicos

Poliovírus

Pólio: Uma menina de 12 anos da Nigéria apresenta cefaleia, febre, náusea e pescoço rígido. Os sintomas regridem e então recidivam após vários dias, com fraqueza e paralisia das pernas. Ela não tem histórico de imunização contra pólio.

Coxsackievírus A

Herpangina: Lesões vesiculares na língua e no céu da boca de um paciente de 7 anos acompanham febre, dor de garganta e dor à deglutição.

Coxsackievírus B (B de body, "corpo")

Pleurodinia: Um menino de 13 anos apresenta febre e dor torácica grave, com cefaleia, fadiga e dores musculares durante quatro dias.

Coxsackievírus ou Ecovírus

Meningite asséptica: Um lactente de 7 meses com febre e exantema se apresenta apático, com rigidez de nuca. Uma amostra do seu líquido cefalorraquidiano contém linfócitos, mas tem glicose normal e ausência de bactérias. A recuperação completa ocorre dentro de um semana.

Rinovírus

Resfriado comum: Um trabalhador de escritório de 25 anos desenvolve corrimento nasal, tosse branda e mal-estar com febre baixa. Um colega teve sintomas semelhantes durante os últimos dias.

Diagnóstico Laboratorial

A síndrome clínica do resfriado comum é geralmente tão característica que o diagnóstico laboratorial é desnecessário. O vírus pode ser isolado de lavados (secreções) nasais. Os rinovírus são cultivados em células fibroblásticas diploides humanas (p. ex., WI-38) a 33° C. O vírus é identificado pelo efeito citopático típico e pela demonstração de sensibilidade ao ácido. Sorotipagem raramente é necessária, mas pode ser efetuada com o uso de misturas de soros neutralizantes específicos. A identificação também pode ser feita por análise do genoma por RT-PCR. A execução de testes sorológicos para documentar infecção por rinovírus não é prática.

Tratamento, Prevenção e Controle

Existem muitos medicamentos livremente comercializados para o resfriado comum. Vasoconstritores nasais podem trazer alívio, mas o seu uso pode ser seguido por congestão e piora dos sintomas. Inalante quente, ar umidificado e até o vapor de uma sopa de galinha quente podem realmente ajudar, aumentando a drenagem nasal.

As drogas antivirais não são efetivas. Pleconaril e drogas similares antivirais experimentais (p. ex., arildona, rodanina, disoxaril) contêm um grupo 3-metilisoxazol que se insere na base da fenda de ligação ao receptor e bloqueia o desencapsidamento do vírus. A enviroxima inibe a RNA polimerase RNA-dependente viral. Um análogo do receptor polipeptídico baseado na estrutura da proteína ICAM-1 está sob avaliação como droga antiviral. A administração intranasal de interferon pode bloquear a infecção durante curto tempo depois de exposição conhecida, mas seu uso a longo prazo (p. ex., durante toda a "estação fria") poderia causar sintomas parecidos com os da gripe, que são pelo menos tão desagradáveis quanto os das infecções por rinovírus.

O rinovírus não é um bom candidato a um programa de vacina. Os múltiplos sorotipos, a aparente variação antigênica (mutação) nos antígenos rinovirais, a necessidade de produção de IgA secretória e a transitoriedade da resposta de anticorpos são importantes problemas para o desenvolvimento de vacinas. Além disso, a relação benefício-risco seria muito baixa, porque os rinovírus não ocasionam doença significativa.

Lavagem das mãos e desinfecção de objetos contaminados são os melhores meios de prevenir a disseminação viral. Lenços faciais viricidas impregnados com ácido cítrico também podem limitar a disseminação do rinovírus.

Referências Bibliográficas

Ansardi DC, Porter DC, Anderson MJ, et al. Poliovirus assembly and encapsidation of genomic RNA. *Adv Virus Res.* 1996;46:1–68. Buenz EJ, Howe CL. Picornaviruses and cell death. *Trends Microbiol.* 2006;14:28–38.

Cann AJ. Principles of molecular virology. San Diego: Academic; 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 4 Oxford, England: Oxford University Press; 2011.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Levandowski RA. Rhinoviruses. In: Belshe RB, ed. Textbook of human virology. ed 2 St Louis: Mosby; 1991.

McKinlay MA, Pevear DC, Rossmann MG. Treatment of the picornavirus common cold by inhibitors of viral uncoating and attachment. *Annu Rev Microbiol*. 1992;46:635–654.

Moore M, Morens DM. Enteroviruses including polioviruses. In: Belshe RB, ed. Textbook of human virology. ed 2 St Louis: Mosby; 1991.

Plotkin SA, Vidor E. Poliovirus vaccine -- inactive. In: Plotkin SA, Orenstein WA, eds. Vaccines, ed 4. Philadelphia: WB Saunders; 2004.

Racaniello VR. One hundred years of poliovirus pathogenesis. Virology. 2006;344:9–16.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Robbins FC. The history of polio vaccine development. In: Plotkin SA, Orenstein WA, eds. *Vaccines*. ed 4 Philadelphia: WB Saunders; 2004. Strauss JM, Strauss EG. *Viruses and human disease*. San Diego: Academic; 2002.

Sutter RW, Kew OM, Cochi SL. Poliovirus vaccine—live. In: Plotkin SA, Orenstein WA, eds. *Vaccines*. ed 4 Philadelphia: WB Saunders; 2004.

Tracy S, Chapman NM, Mahy BWJ. Coxsackie B viruses. Curr Top Microbiol Immunol. 1997;223:153-167.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

Whitton JL, Cornell CT, Feuer R. Host and virus determinants of picornavirus pathogenesis and tropism. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3:765–776.

Websites

Alsina-Gilbert M, Sloan SB: Dermatologic manifestations of enteroviral infections. www.emedicine.com/derm/topic875.htm. Acessado em 4 de abril de 2015.

Lutwick LI: Picornavirus—overview. www.emedicine.com/med/topic1831.htm. Acessado em 4 de abril de 2015.

Manor Y, Shulman LM, Kaliner E, et al. Intensified environmental surveillance supporting the response to wild poliovirus type 1 silent circulation in Israel, 2013. *Euro Surveill*. 2014;19:20708: www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20708. Acessado em 4 de abril de 2015.

Picornaviridae online. www.picornaviridae.com. Acessado em 4 de abril de 2015.

Porter KA, Ousmane MD, Burns CC, et al. Tracking progress toward polio eradication—worldwide, 2013-2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2015;64(15):415–420: www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6119a6.htm. Acessado em 8 de maio de 2015.

Rajnik M: Rhinovirus infection. www.emedicine.com/ped/topic2707.htm. Acessado em 4 de abril de 2015.

CAPÍTULO 47

Coronavírus e Norovírus

Um estudante de 17 anos queixa-se de um resfriado.

- 1. Quais são as possíveis causas?
- 2. Que propriedades do vírus limitam a infecção ao trato respiratório superior?
- 3. Como ele é transmitido e adquirido?

Um dia depois de comer burritos em um restaurante de *fast-food*, vários estudantes de medicina reclamaram de diarreia grave, náuseas, vômitos e febre baixa durante dois dias. Outros clientes também tiveram gastroenterite.

- 4. Quais são as causas prováveis da gastroenterite? Como o período de incubação de 24 horas pode ajudar o diagnóstico?
- 5. Como esse agente causa diarreia?
- 6. Qual é a melhor forma de detectar esse agente?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Coronavírus

Palavras-gatilho

Resfriado comum, SARS, MERS

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho médio, envelopado, genoma de RNA (+)
- Resistente aos detergentes devido à "coroa" de glicoproteína (constitui uma exceção à regra no caso dos vírus envelopados)
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replica-se no citoplasma
- A maioria dos coronavírus não pode replicar-se à temperatura corporal, estando restrita ao trato respiratório superior
- A maioria dos coronavírus causa resfriado simples
- MERS e SARS podem replicar-se a 37° C
- Pneumonias graves

Epidemiologia

• Transmitidos por aerossóis, contato direto, fecal-oral, piscinas contaminadas

Diagnóstico

• Sintomatologia, análise do genoma por RT-PCR ou secreções respiratórias

Tratamento, Prevenção e Controle

• Quarentena em caso de SARS, MERS

Norovírus (Caliciviridae)

Palavras-gatilho

Surtos de diarreia, cruzeiros de navio, diarreia aquosa, vômitos

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho pequeno, capsídeo, genoma de RNA (+)
- Muito resistente ao ambiente, incluindo detergentes e outros desinfetantes
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replicando-se no citoplasma
- Causa lesão na borda em escova da mucosa do intestino
- Diarreia com náuseas e vômitos

Epidemiologia

• Transmitidos pela via fecal-oral, em alimentos e água contaminados; muito resistentes à inativação

Diagnóstico

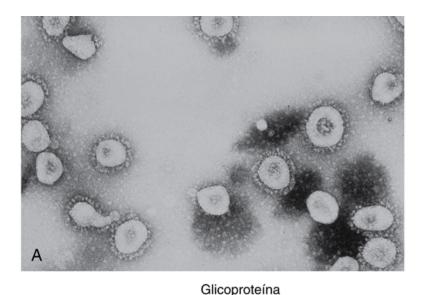
• Sintomatologia, análise do genoma por RT-PCR, ou secreções respiratórias

Tratamento, Prevenção e Controle

• Tratamento de suporte

Coronavírus

Os coronavírus são assim nomeados pela aparência semelhante à coroa solar (as projeções da superfície) dos seus vírions, quando vistos num microscópio eletrônico (Fig. 47-1). Os coronavírus são a segunda causa mais prevalente dos **resfriados comuns** (os rinovírus são a primeira). Os coronavírus têm causado surtos de **síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV)** na China e no Oriente Médio (síndrome respiratório do Oriente Médio [MERS-CoV]). Descobertas feitas por microscopia eletrônica também ligam os coronavírus à gastroenterite em crianças e adultos.



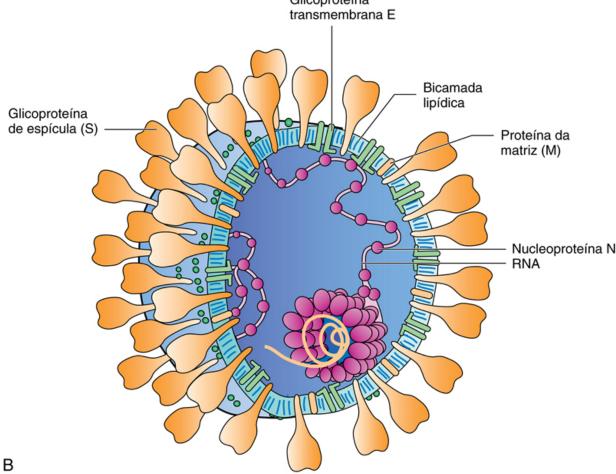


FIGURA 47-1 A, Micrografia eletrônica do coronavírus respiratório humano (ampliada 90.000 vezes). B, Modelo de um coronavírus. O nucleocapsídeo viral é uma hélice flexível, longa, composta de RNA genômico de fita positiva e muitas moléculas de proteína N fosforilada do nucleocapsídeo. O envelope viral consiste em uma bicamada lipídica derivada das membranas intracelulares da célula hospedeira e duas ou três glicoproteínas virais (Espícula [S], E, possivelmente esterase-hemaglutinina [HE]) e uma proteína da matriz.). (A, Cortesia dos Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta; B, Modificada de Fields BF, Knipe DM: Virology, New York, 1985, Raven.)

Estrutura e Replicação

Os coronavírus são vírions envelopados com o genoma de ácido ribonucleico (RNA) positivo (+) mais longo. Os vírions medem de 80 a 160 nm de diâmetro (Quadro 47-1). As glicoproteínas na superfície do envelope aparecem como projeções em forma de taco que aparecem como um halo (coroa) em torno do vírus. Ao contrário da maioria dos vírus envelopados, a "coroa" formada pelas glicoproteínas permite que o vírus tolere as condições no trato gastrointestinal e seja disseminado por via fecal-oral.

O vírus possui vírions de tamanho médio com aparência semelhante à coroa solar.

O genoma RNA de polaridade positiva, fita simples, está fechado em um envelope contendo a proteína de ligação viral E2, a proteína de matriz E1 e a proteína de nucleocapsídeo N.

A tradução do genoma ocorre em duas fases: (1) a fase precoce produz uma RNA polimerase (L) e (2) a fase tardia, de um molde de RNA de polaridade negativa, produz proteínas estruturais e não estruturais.

O vírus é montado no retículo endoplasmático rugoso.

O vírus é difícil de ser isolado e cresce em cultura celular normal.

O grande genoma RNA de fita positiva (de 27.000 a 30.000 pares de bases) associa-se à proteína N para formar um nucleocapsídeo helicoidal. A síntese da proteína ocorre em duas fases, semelhante à dos togavírus. Na infecção, o genoma é traduzido de forma a gerar uma poliproteína que é clivada para produzir uma RNA polimerase RNA-dependente (L [225.000 Da]) e outras proteínas. A transcrição e a replicação do genoma ocorrem no interior de vesículas de membrana criadas por proteínas virais. A proteína L produz e, em seguida, utiliza um molde de RNA de sentido negativo para replicar novos genomas e produzir de cinco a sete **ácidos ribonucleicos mensageiros individuais** (RNAms) para as proteínas virais individuais.

Os vírions contêm as glicoproteínas E1 (20.000 a 30.000 Da) e E2 (160.000 a 200.000 Da) e uma nucleoproteína central (N [47.000 a 55.000 Da] – nucleoproteína do *core*); algumas cepas também contêm uma hemaglutinina-neuraminidase (E3 [120.000 a 140.000 Da]) (Tabela 47-1). A glicoproteína E2 é responsável por mediar a ligação viral e a fusão da membrana e é o alvo dos anticorpos neutralizantes. A glicoproteína E1 é uma proteína de matriz transmembrana. O esquema de replicação do coronavírus é mostrado na Figura 47-2.



Tabela 47-1

Principais Proteínas dos Coronavírus Humano

Proteínas	Peso Molecular (kDa)	Localização	Funções
E2 (glicoproteína peplomérica)	160-200	Espículas do envelope (peplômero)	Ligação às células hospedeiras; atividade de fusão
H1 (proteína hemaglutinina)	60-66	Peplômero	Hemaglutinação
N (nucleoproteína)	47-55	Núcleo	Ribonucleoproteína
E1 (glicoproteína da matriz)	20-30	Envelope	Proteína de transmembrana
L (polimerase)	225	Célula infectada	Atividade da polimerase

Modificada de Balows A, Hausler WJ, Lennette EH, et al: Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice, New York, 1988, Springer-Verlag.

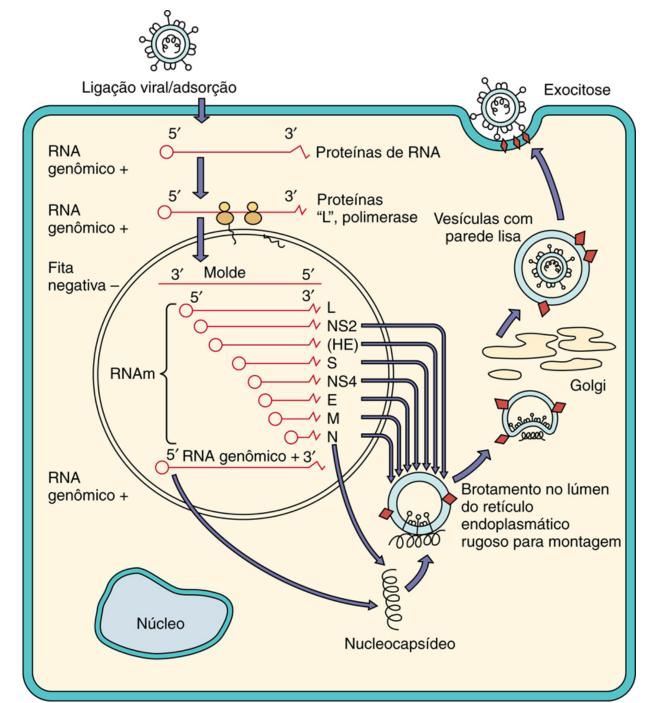


FIGURA 47-2 Replicação dos coronavírus humanos. A glicoproteína E2 interage com os receptores nas células epiteliais, o vírus se funde ou é endocitado na célula, e o genoma é liberado no citoplasma. A síntese proteica é dividida em fases precoce e tardia, semelhante à dos togavírus. O genoma liga-se aos ribossomos, e uma RNA polimerase RNA-dependente é traduzida. Essa enzima gera um molde de RNA de polaridade negativa e comprimento total para a produção de novos genomas de vírion e seis RNAm individuais para as outras proteínas do coronavírus. O genoma associa-se com membranas do retículo endoplasmático rugoso modificado através das proteínas do vírion e brota no lúmen do retículo endoplasmático rugoso. Vesículas que contêm o vírus migram para a membrana celular, e o vírus é liberado por exocitose. (Modificada de Balows A, Hausler WJ, Lennette EH, et al:Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice, New York, 1988, Springer-Verlag.)

Patogênese e Síndromes Clínicas

A maioria dos coronavírus humanos tem uma *temperatura ótima para o crescimento viral de 33° C a 35° C*, e, portanto, a infecção permanece restrita ao trato respiratório superior. Os coronavírus animais, incluindo SARS-CoV e MERS-CoV, podem replicar-se a 37ª C e causar doença sistêmica. Os coronavírus causam infecções citolíticas e, quando inoculados nas vias respiratórias de humanos voluntários, infectam e interrompem a função das células epiteliais ciliadas (Quadro 47-2). A propagação mais provável deste vírus é por aerossóis. A maioria dos coronavírus humanos causa uma infecção do trato respiratório superior, responsável por cerca de 10% a 15% das infecções do trato respiratório superior em humanos. A doença é semelhante a um resfriado comum causado por rinovírus, mas com um período de incubação mais longo (em média, três dias). A infecção pode agravar doenças pulmonares crônicas preexistentes, como asma ou bronquite e, em casos raros, pode ocasionar pneumonia.



Quadro 47-2 Mecanismos Patológicos dos Coronavírus Humanos

O vírus infecta as células epiteliais do trato respiratório superior.

O vírus replica-se melhor à temperatura de 33° C a 35° C; por isso, ele prefere o trato respiratório superior.

A reinfecção ocorre na presença de anticorpos do soro.

A glicoproteína "corona" ajuda esse vírus envelopado a sobreviver no trato gastrointestinal.

A infecção pela síndrome respiratória aguda grave é exacerbada pelas respostas inflamatórias.

As infecções ocorrem principalmente em recém-nascidos e crianças. A doença do coronavírus surge de forma esporádica ou em surtos no inverno e na primavera. Em geral, uma cepa predomina em um surto. Os anticorpos para os coronavírus estão presentes uniformemente na fase adulta, mas as reinfecções são comuns, apesar da preexistência de anticorpos no soro.

Partículas semelhantes aos coronavírus também têm sido vistas por meio da microscopia eletrônica de amostras de fezes obtidas de adultos e crianças com diarreia e gastroenterite e recém-nascidos com enterocolite necrosante neonatal.

SARS-CoV e MERS-CoV constituem zoonoses. Os surtos dessas doenças ocorreram quando o reservatório animal entra em contato com o homem. SARS-CoV e MERS-CoV são vírus citolíticos que podem replicar-se à temperatura corporal em células epiteliais, linfócitos e leucócitos. Uma combinação de patogênese viral e imunopatogênese causa dano tecidual significativo no pulmão, rim, fígado e trato gastrointestinal, e depleção de células do sistema imunológico.

A SARS é uma forma de pneumonia atípica caracterizada por febre alta (> 38° C), calafrios, rigidez, dor de cabeça, tontura, mal-estar, mialgia, tosse ou dificuldade de respiração, acarretando síndrome da angústia respiratória aguda. Até 20% dos pacientes podem também desenvolver diarreia. Os indivíduos com SARS, provavelmente, foram expostos ao vírus dentro dos 10 dias anteriores ao aparecimento dos primeiros sintomas. A mortalidade é de, pelo menos, 10% das pessoas sintomáticas. Embora o SARS-CoV seja mais comumente transmitido por gotículas respiratórias, ele também está no suor, na urina e nas fezes.

O surto de SARS começou em novembro de 2002 na província de Guangdong, sul da China, e foi levado a Hong Kong por um médico que trabalhava dentro do surto original e, em seguida, foi levado ao Vietnã, a Toronto e a outros lugares por intermédio de viajantes. O vírus provou ser um coronavírus por sua morfologia mediante microscopia eletrônica e por meio da reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR). O vírus, aparentemente, "saltou" para o homem a partir dos animais (gatos-de-algália, cães-guaxinins e furão-texugo-chinês) criados para o consumo alimentar. Um alerta global da Organização Mundial da Saúde (OMS) resultou em medidas de contenção para limitar a disseminação do vírus e controlou o surto de 8.000 indivíduos infectados, mas com pelo menos 784 mortes. Restrições relativas a viagens e o receio público resultaram em perda de centenas de milhões de dólares em viagens e outros negócios.

O MERS-CoV também causa a síndrome da angústia respiratória aguda, com uma mortalidade de 50% dos indivíduos identificados como infectados com MERS. A maioria dos casos de MERS ocorreu na Península Arábica. Os morcegos e camelos são os reservatórios naturais de MERS-CoV.

Diagnóstico Laboratorial

Os exames laboratoriais não são realizados de forma rotineira para diagnosticar infecções por coronavírus, com exceção de SARS e MERS. A RT-PCR é o método de eleição para a detecção do genoma de RNA do vírus em amostras respiratórias e de fezes. O isolamento dos coronavírus é difícil e, em caso de SARS-CoV e MERS-CoV, exige condições rigorosas de biossegurança de nível 3 (BSL-3).

Tratamento, Prevenção e Controle

O controle da transmissão respiratória na forma de resfriado comum do coronavírus seria difícil e provavelmente desnecessário, por causa da suavidade da infecção. Quarentena rígida dos indivíduos infectados e triagem quanto à febre dos viajantes provenientes de uma região com surto de SARS-CoV e MERS-CoV limitam a disseminação desses vírus. Ainda não está disponível nenhuma vacina ou terapia antiviral específica.

Norovírus

O norovírus é a causa mais comum de surtos de doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos. Os norovírus são membros da família Caliciviridae, que também inclui os astrovírus e outros vírus pequenos, redondos, causadores da gastroenterite. O vírus Norwalk, o protótipo dos norovírus, foi descoberto durante epidemia de gastroenterite aguda em Norwalk, Ohio, em 1968, por meio do exame de microscopia eletrônica de amostras de fezes de adultos. Muitos dos outros vírus dessa família também levam os nomes das localizações geográficas onde foram identificados (Quadro 47-3).



Quadro 47-3 Características dos Norovírus

Os vírus são pequenos, com capsídeo, que podem ser distinguidos pela morfologia do capsídeo.

Os vírus são resistentes à pressão ambiental: detergentes, secagem e ácido.

Os vírus são transmitidos pela via fecal-oral em água e alimentos contaminados.

Os vírus causam surtos de gastroenterite.

A doença resolve após 48 horas, sem consequências sérias.

Estrutura e Replicação

Os norovírus assemelham-se aos picornavírus e são aproximadamente do mesmo tamanho que eles. Seu **genoma de RNA de sentido positivo** (≈ 7.500 bases) tem uma proteína VPg (proteína viral ligada ao genoma) e uma sequência de poliadenilato 3′-terminal (cauda poli A) semelhante aos picornavírus. O genoma está contido em um **capsídeo descoberto** de 27 nm, consistindo em proteínas de capsídeo com 60.000 Da. Os vírions Norwalk são redondos, com um contorno irregular, enquanto outros capsômeros de calicivírion têm contorno dentado em forma de copas ou em forma de estrela de seis pontas, mas sem contorno dentado. Os vírions dos astrovírus têm a forma de estrela de cinco ou seis pontas na superfície, mas sem contorno dentado. Os anticorpos das pessoas soropositivas também podem ser usados para distinguir esses vírus.

A maioria dos calicivírus e dos astrovírus pode crescer em cultura de células, mas os vírus Norwalk não. A expressão dos genes de proteínas estruturais de diferentes vírus Norwalk nas células de cultura de tecidos produz partículas semelhantes ao vírus Norwalk. Essas partículas foram utilizadas para demonstrar que os vírus Norwalk se ligam ao carboidrato do antígeno dos grupos sanguíneos A, B, ou O na superfície das células. Os norovírus entram e saem das células de forma semelhante aos picornavírus, mas transcrevem um RNAm precoce e tardio semelhante aos togavírus e coronavírus. O RNAm precoce codifica uma poliproteína contendo a RNA polimerase e outras enzimas. O RNAm tardio codifica as proteínas do capsídeo.

Patogênese

As cepas de norovírus que infectam os seres humanos só podem infectar os humanos. Apenas 10 vírions são capazes de iniciar doença nos seres humanos. O vírus infecta e danifica o intestino delgado, impedindo a absorção adequada de água e nutrientes e causando uma diarreia aquosa. O esvaziamento gástrico pode ser retardado, provocando vômitos. A excreção do vírus pode continuar por duas semanas após cessarem os sintomas. A imunidade é geralmente de curta duração na melhor das hipóteses e pode não ser protetora. O grande número de cepas e a alta taxa de mutação permitem a reinfecção, apesar dos anticorpos de exposição anterior.

Epidemiologia

O vírus Norwalk e outros vírus relacionados normalmente causam surtos de gastroenterite em decorrência de fonte comum de contaminação (p. ex., água, ostras, saladas, framboesas, alimentos manipulados). Esses vírus são transmitidos principalmente pela via fecal-oral nas fezes e no vômito. O vírus é resistente ao calor e à secagem, e pode permanecer nas superfícies durante longos períodos. Os indivíduos infectados disseminam as maiores quantidades de vírus durante a doença e três dias após a recuperação, mas continuam a disseminar o vírus por um período adicional de quatro semanas. Durante o pico de excreção, 100 bilhões de vírions são liberados por grama de fezes. Até 30% dos indivíduos infectados são assintomáticos, mas estes também podem disseminar a infecção.

Surtos em países desenvolvidos podem ocorrer o ano inteiro e têm sido descritos nas escolas, em *resorts*, hospitais, casas de repouso, restaurantes e navios de cruzeiro. Surtos derivados de uma fonte comum muitas vezes podem ser rastreados até chegar a uma pessoa contaminada e descuidada que lida com alimentos. Os Centers for Disease Control and Prevention estima que aproximadamente 50% (23 milhões de casos nos Estados Unidos por ano) de todos os surtos de gastroenterite transmitidos por alimentos podem ser atribuídos ao norovírus, que é um tributo à importância desse vírus. Cerca de 70% das crianças nos Estados Unidos já têm anticorpos para norovírus aos 7 anos.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 47-1; Quadro 47-4)

O vírus Norwalk e outros vírus relacionados causam sintomas semelhantes àqueles produzidos pelos rotavírus, porém em adultos e crianças. A infecção provoca acesso agudo de **diarreia**, **náuseas**, **vômitos** e cólicas abdominais, especialmente em crianças (Fig. 47-3). Não ocorrem fezes com sangue. Pode ocorrer febre em até um terço dos pacientes. O período de incubação é geralmente de 12 a 48 horas, e a doença costuma resolver dentro de 1-3 dias sem problemas, mas pode durar até seis dias.

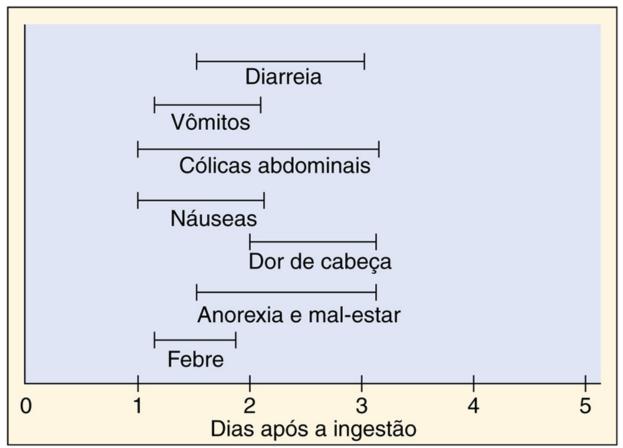


FIGURA 47-3 Resposta à ingestão do vírus Norwalk. A gravidade dos sintomas é variável.



Quadro 47-4 Resumos Clínicos

Coronavírus

Resfriado comum: Um trabalhador de escritório de 25 anos desenvolve coriza, tosse moderada, mal-estar e febre baixa. Um colega de trabalho teve sintomas similares nos últimos dias.

SARS: Um executivo de 45 anos retornou de uma viagem de duas semanas à China. Cinco dias após voltar para casa, nos Estados Unidos, ele desenvolveu uma febre de 38,6° C (101,5° F) e tosse. Agora, ele apresenta dificuldade para respirar.

Norovírus

Vírus Norwalk: No terceiro dia de um cruzeiro (período de incubação de 24 a 60 horas), um grupo de 45 passageiros do navio apresentou diarreia aquosa, náusea e vômito durante 12-60 horas, dependendo do indivíduo.



Caso Clínico 47-1 Surto do Vírus Norwalk

Brummer-Korvenkontio e colaboradores (*Epidemiol Infect* 129:335-360, 2002) descreveram surto de gastroenterite em crianças que assistiram a um concerto; a infecção foi rastreada até a contaminação de uma seção específica de assentos, banheiros e outras áreas visitadas por um indivíduo. Um dos expectadores da sessão anterior do mesmo concerto estava doente e vomitou quatro vezes no *hall* do evento: em uma lixeira do corredor, no banheiro, no chão da saída de emergência e no carpete da área de trânsito de pessoas. Seus familiares apresentaram sintomas dentro de 24 horas. Um concerto de crianças para várias escolas foi realizado no dia seguinte. As crianças sentadas na mesma área do incidente anterior e aquelas crianças que atravessaram o carpete contaminado tiveram a maior incidência da doença, caracterizada por diarreia aquosa e vômitos, por aproximadamente dois dias. A análise por meio da RT-PCR de amostras fecais de duas crianças doentes detectou o RNA genômico do vírus Norwalk. O vômito infectado pode ter até um milhão de vírus por mililitro; apenas 10 a 100 vírus são necessários para transmitir a doença. O contato com sapatos contaminados, mãos, roupas ou aerossóis pode ter infectado as crianças. A presença de capsídeo no vírus Norwalk torna-o resistente aos produtos de limpeza do dia a dia; a desinfecção geralmente requer soluções recém-preparadas de hipoclorito (alvejante) ou vapor de limpeza.

A utilização de RT-PCR para a detecção do genoma do norovírus nas fezes ou no vômito otimizou a velocidade de detecção do vírus durante os surtos. A microscopia imunoeletrônica pode ser utilizada para concentrar e identificar o vírus das fezes. A adição de um anticorpo direcionado contra o agente sob suspeita faz com que o vírus se agregue, facilitando assim o reconhecimento. Os testes de ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA) foram desenvolvidos para detectar o antígeno viral e os anticorpos para o vírus. Os outros agentes semelhantes aos calicivírus são mais difíceis de detectar.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não existe tratamento específico para a diarreia causada pelos calicivírus ou outros vírus da gastroenterite pequenos e redondos, exceto a terapêutica de reidratação oral. Os surtos podem ser minimizados manipulando-se cuidadosamente os alimentos e mantendo-se a pureza do abastecimento de água. A lavagem cuidadosa das mãos também é importante. Mais resistente às pressões ambientais do que os poliovírus ou rotavírus, o vírus Norwalk é resistente ao calor (60° C), pH 3, detergente e até mesmo aos níveis de cloro da água potável. Superfícies contaminadas podem ser limpas com alvejante doméstico diluído de 1:50 a 1:10.

Referências Bibliográficas

Balows A, Hausler WJ, Lennette EH. Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice. New York: Springer-Verlag; 1988.

Blacklow NR, Greenberg HB. Viral gastroenteritis. N Engl J Med. 1991;325:252-264.

Cann AJ. Principles of molecular virology. San Diego: Academic; 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Christensen ML. Human viral gastroenteritis. Clin Microbiol Rev. 1989;2:51-89.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 4 Oxford, England: Oxford University Press; 2011.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Graham RL, Donaldson EF, Baric RS. A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11:836–848.

Gu J, Korteweg C. Pathology and pathogenesis of severe acute respiratory syndrome. Am J Pathol. 2007;170:1136–1147.

Hall AJ, Vinje J, Lopman B, et al. Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2011;60:1–15.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Meulen V, Siddell S, Wege H. Biochemistry and biology of coronaviruses. New York: Plenum; 1981.

Patel MM, Hall AJ, Vinje J, et al. Noroviruses: a comprehensive review. J Clin Virol. 2009;44:1-8.

Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. Nat Rev Microbiol. 2009;7:439-450.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Tan M, Huang P, Meller J, et al. Mutations within the P2 domain of norovirus capsid affect binding to human histo-blood group antigens: evidence for a binding pocket. *J Virol*. 2003;77:12562–12571.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

Xi JN, Graham DY, Wang KN, et al. Norwalk virus genome cloning and characterization. Science. 1990;250:1580–1583.

Websites

Centers for Disease Control and Prevention: Norovirus. www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/gastro/norovirus.htm. Acessado em 4 de abril de 2015.

Hall AJ, Wikswo ME, Pringle K, et al. Vital signs: foodborne norovirus outbreaks—United States, 2009-

2012. MMWR. 2014;63:1–5: www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm63e0603a1.htm?s_cid=mm63e0603a1_e. Acessado em 4 de abril de 2015

Kamps BS, Hoffmann C: SARS reference, 2003. www.sarsreference.com/sarsref/preface.htm. Acessado em 4 de abril de 2015.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases: Severe acute respiratory

syndrome. www.niaid.nih.gov/topics/sars/Pages/default.aspx. Acessado em 4 de abril de 2015.

Trivedi MN, Malhotra P: Severe acute respiratory syndrome (SARS), 2013. http://emedicine.medscape.com/article/237755-overview. Acessado em 4 de abril de 2015.

Vital Signs: Foodborne norovirus outbreaks—United States, 2009-2012. www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm63e0603a1.htm? s_cid=mm63e0603a1_e. Acessado em 4 de abril de 2015.

CAPÍTULO 48

Paramixovírus

Um menino de 10 anos apresentou tosse, conjuntivite e coriza, com febre e linfadenopatia que progrediram para erupção cutânea que se espalhou a partir da linha do cabelo até o rosto e, em seguida, para o corpo. Dentro de 10 dias, a doença parecia seguir seu curso, mas uma semana depois de começarem as erupções cutâneas, iniciou-se abruptamente um quadro de dor de cabeça, vômitos e confusão, que progrediu para o coma, sintomas coerentes com encefalite.

- 1. Como o sarampo se replica?
- 2. Quais são os sinais característicos do sarampo?
- 3. Como ele é transmitido?
- 4. Por que o menino estava suscetível ao sarampo?
- 5. Quais são as outras complicações associadas ao sarampo?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Paramixovírus

Palavras-gatilho

Fusão, sincícios, aerossóis, envelope

Sarampo: tosse, conjuntivite, coriza, fotofobia, manchas de Koplik, erupção cutânea, febre, SSPE, encefalite pós-sarampo Caxumba: parotidite, orquite, meningite asséptica

Parainfluenza: crupe, tosse de foca, pneumonia

Vírus sincicial respiratório: bebê, pneumonia

Biologia, Virulência e Doença

- Grande, envelopado, genoma de RNA (-), proteína de fusão
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replicando-se no citoplasma
- Os vírus parainfluenza e da caxumba ligam-se ao ácido siálico e codificam a atividade da neuraminidase (glicoproteína HN); o vírus do sarampo e a glicoproteína do VSR ligam-se às proteínas
- A proteína de fusão promove a entrada e a fusão célula-célula (sincício)
- Resposta imune mediada por células essencial para o controle, mas causa patogenia
- Sarampo: erupção maculopapular, febre elevada com tosse, conjuntivite, coriza, manchas de Koplik (lesões pequenas e cinzentas na cavidade oral); pneumonia de células gigantes se houver deficiência de células T, encefalite pós-sarampo, ocorrência de SSPE 5-7 anos depois, devido a uma variante do sarampo
- Caxumba: parotidite, orquite, meningite asséptica
- Parainfluenza: resfriado comum, crupe, bronquite
- Vírus sincicial respiratório (VSR): resfriado comum, pneumonia, bronquiolite, constitui ameaça à vida para bebês prematuros

Epidemiologia

• Transmitidos por aerossóis

Diagnóstico

• Sintomatologia, análise do genoma de secreções respiratórias por RT-PCR

Tratamento, Prevenção e Controle

 Vacina viva atenuada para sarampo e caxumba; VSR: imunização passiva para os bebês prematuros de alto risco; ribavirina administrada por aerossóis

A família Paramyxoviridae inclui os gêneros *Morbillivirus, Paramyxovirus* e *Pneumovirus* (Tabela 48-1). Entre os morbilivírus patogênicos ao homem, podemos citar o vírus do **sarampo**; entre os paramixovírus, os vírus **parainfluenza** e da **caxumba**, e

entre os pneumovírus, o **vírus sincicial respiratório (VSR)** e o **metapneumovírus**. Um novo grupo altamente patogênico dos paramixovírus, que inclui os vírus zoonóticos Nipah e Hendra, foi identificado em 1998 depois de um surto de encefalite grave na Malásia e em Cingapura. Seus vírions apresentam morfologias e componentes proteicos similares. É importante notar que o paramixovírus induz a **fusão célula a célula** (formação de sincício e de células gigantes multinucleadas).



Tabela 48-1

Paramyxoviridae

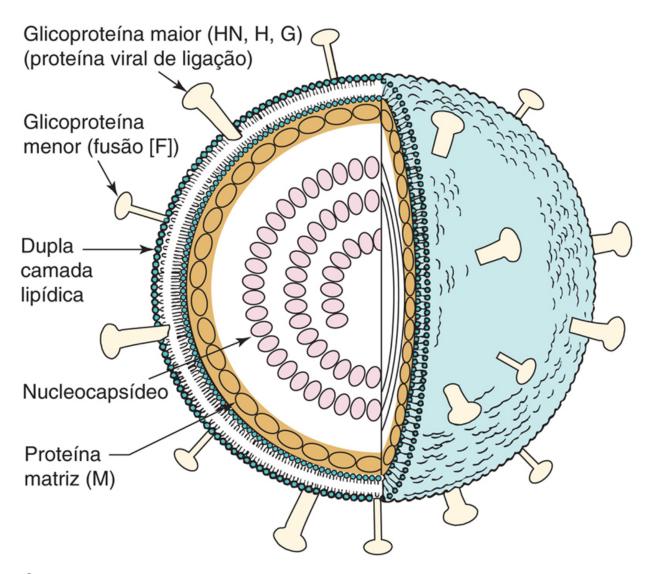
Gênero	Patógeno Humano	
Morbillivirus	Vírus do sarampo	
Paramyxovirus	Vírus parainfluenza tipos 1 a 4	
	Vírus da caxumba	
Pneumovirus	Vírus sincicial respiratório	
	Metapneumovírus	

Esses agentes causam algumas doenças bem conhecidas. O vírus do sarampo provoca infecção generalizada potencialmente grave, caracterizada pelo exantema maculopapular (**rubéola**). Os vírus parainfluenza e metapneumovírus ocasionam infecções nos tratos respiratórios superior e inferior, primariamente em crianças, que podem apresentar resfriado comum, faringite, crupe viral, bronquite, bronquiolite e pneumonia. O vírus da caxumba causa infecção sistêmica, com a parotidite como manifestação clínica predominante. O VSR causa infecções brandas no trato respiratório superior tanto em crianças como em adultos; nos bebês pode originar pneumonia grave com risco de morte.

Os vírus do sarampo e da caxumba possuem um **único sorotipo**, e a proteção é fornecida pela administração de **vacinas vivas**. Nos Estados Unidos e em outros países desenvolvidos, o sucesso nos programas de vacinação utilizando vacinas vivas de sarampo e caxumba tornou essas doenças raras. Mais precisamente, tais programas acarretaram eliminação virtual das sequelas graves do sarampo nesses países.

Estrutura e Replicação

Os paramixovírus são relativamente grandes, com o genoma composto por **ácido ribonucleico (RNA) de fita simples de sentido negativo** (de 5 a 8 × 10⁶ Da) contido em um nucleocapsídeo helicoidal envolvido por um **envelope** pleomórfico de cerca de 156 a 300 nm (Fig. 48-1). Eles são similares em diversos aspectos aos ortomixovírus, porém são maiores e não possuem o genoma segmentado dos vírus influenza (Quadro 48-1). Apesar de existir similaridade entre genomas dos paramixovírus, a sequência das regiões codificantes de proteína diferem para cada gênero. As proteínas do paramixovírus estão listadas na Tabela 48-2.





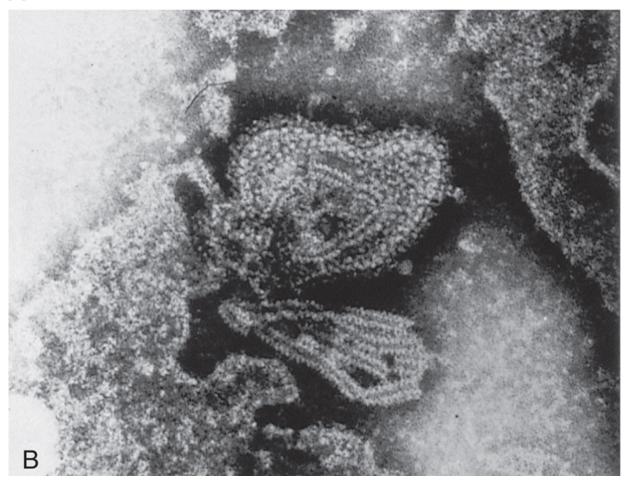


FIGURA 48-1 A, Modelo de paramixovírus. O nucleocapsídeo helicoidal — consistindo em RNA de fita simples, sentido negativo e nas proteínas polimerase (P), nucleoproteína (N) e proteína grande (L) — associado a proteína matriz (M) na superfície da membrana do envelope. O nucleocapsídeo contém atividade de RNA-transcriptase. O envelope contém a glicoproteína viral de ligação (hemaglutinina-neuraminidase [HN], hemaglutinina [H], ou proteína G [G], dependendo do vírus) e a proteína de fusão (F). B, Micrografia eletrônica de um paramixovírus mostrando o nucleocapsídeo helicoidal. (A, Adaptada de Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: Review of medical microbiology, ed 17, Norwalk, Conn, 1987, Appleton & Lange. B, Cortesia dos Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)



Quadro 48-1 Características Específicas da Família Paramyxoviridae

O vírion completo consiste em um genoma RNA de sentido negativo em um nucleocapsídeo helicoidal envolto por um envelope

Os três gêneros podem ser distinguidos pelas atividades da proteína de ligação viral: a HN dos vírus da parainfluenza e da caxumba se liga ao ácido siálico e às hemácias (hemaglutinina) e à atividade da neuraminidase; a proteína H do vírus do sarampo se liga a receptores de proteínas e é também uma hemaglutinina, porém a proteína G do VSR se liga a células, mas não é uma hemaglutinina.

O vírus tem sua replicação no citoplasma.

Os vírions penetram na célula através de fusão com a membrana plasmática e são liberados por brotamento pela membrana plasmática sem matar a célula.

O vírus induz a fusão célula a célula, formando células gigantes multinucleadas (sincícios).

A imunidade celular é responsável por muitos dos sintomas, embora seja essencial no controle da infecção.

Os paramixovírus são transmitidos em partículas respiratórias e iniciam a infecção pelo trato respiratório.



Tabela 48-2

Principais Proteínas Codificadas pelos Paramixovírus

Genes e Proteínas*†	Localização no Vírion	Função
N: nucleoproteína	Proteína interna principal	Proteção do RNA viral
P: fosfoproteína e proteínas C e V	Associação com nucleoproteína	Parte do componente do complexo de transcrição; C e V são antagonistas das respostas inatas
M: matriz (M)	Envelope viral	Montagem dos vírions
F: proteína de fusão	Glicoproteína transmembrana do envelope	Promove a fusão celular, hemólise e entrada do vírus
G: glicoproteína (HN, H, G)	Glicoproteína transmembrana do envelope	Proteína de ligação do vírus
L: polimerase (grande)	Associação com nucleoproteína	Polimerase

^{*} Por esta ordem no genoma.

O nucleocapsídeo consiste em um RNA de fita simples, sentido negativo, associado a uma nucleoproteína (N), uma fosfoproteína polimerase (P) e uma proteína grande (L). A proteína L é a RNA-polimerase, a proteína P facilita a síntese de RNA, e a proteína N ajuda a manter a estrutura genômica. O nucleocapsídeo se associa com uma proteína matriz (M), revestindo o interior do envelope viral. O envelope contém duas glicoproteínas, uma proteína de fusão (F) e uma proteína viral de ligação (hemaglutinina-neuraminidase [HN], hemaglutinina [H] ou glicoproteína [G] proteína) (Quadro 48-1). A fim de expressar sua atividade de fusão de membranas, a proteína F deve ser ativada por clivagem proteolítica, gerando os glicopeptídeos F₁ e F₂, que são unidos por uma ligação dissulfeto. Proteínas adicionais (V, C e W) resultam de transcrições alternativas do gene P e facilitam a fuga às proteções inatas do hospedeiro.

A replicação dos paramixovírus é iniciada pela ligação das glicoproteínas HN, H ou G presentes no envelope do vírion aos seus receptores. As glicoproteínas HN do vírus da parainfluenza ligam-se ao ácido siálico nos glicolipídios e glicoproteínas da superfície das células. À semelhança da influenza, os paramixovírus utilizam a atividade da neuraminidase para clivar o ácido siálico nas glicoproteínas virais e celulares, impedindo a ligação a si próprios e facilitando a saída da célula. Os outros paramixovírus ligam-se a receptores proteicos e não precisam de uma atividade de neuraminidase. A proteína F promove a fusão do envelope viral com a membrana plasmática celular. Os paramixovírus também são capazes de induzir a fusão célula a célula, criando células gigantes multinucleadas (sincícios).

A replicação do genoma ocorre de maneira similar à de outros vírus de RNA de fita negativa (p. ex., os rabdovírus). A RNA-polimerase é carreada para o interior da célula como parte do nucleocapsídeo. A transcrição, síntese de proteínas e replicação do genoma ocorrem no citoplasma da célula hospedeira. O genoma é transcrito em RNA mensageiros (RNAm)

[†] Os pneumovírus também codificam as proteínas SH e M2.

individuais e em uma fita de RNA completa de sentido positivo. Os novos genomas se associam com as proteínas L, N e N para formar os nucleocapsídeos helicoidais, que junto às proteínas M e em associação com a membrana plasmática formam glicoproteínas virais. As glicoproteínas são sintetizadas e processadas como glicoproteínas celulares. Os vírions maduros brotam da membrana plasmática da célula hospedeira e são liberados deixando a célula viva. A replicação dos paramixovírus está representada pelo ciclo infeccioso do VSR mostrado na Figura 48-2.

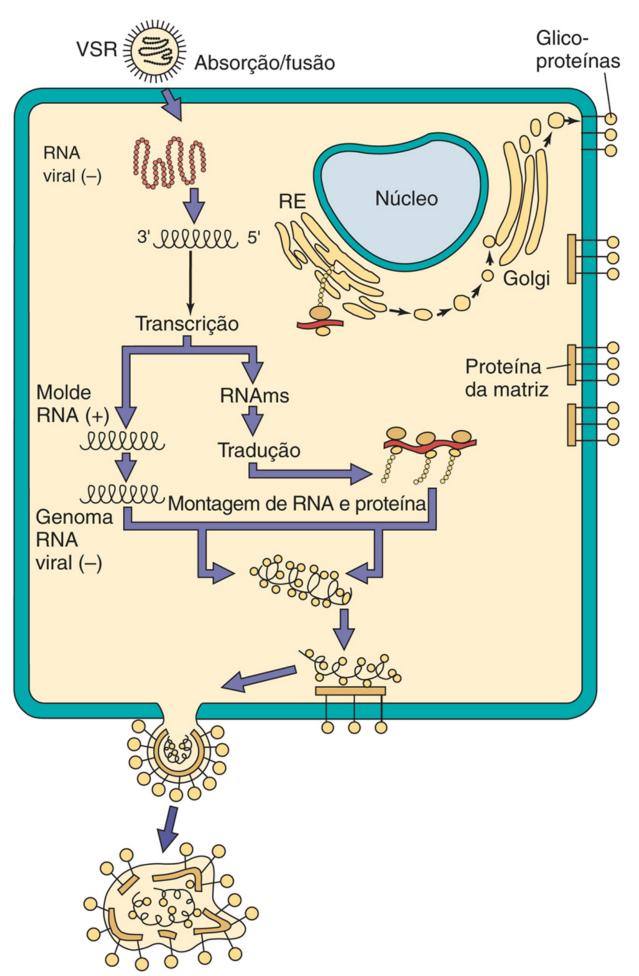


FIGURA 48-2 Replicação dos paramixovírus. O vírus se liga a glicolipídios ou proteínas e ocorre a fusão na superfície da célula. Os RNAs mensageiros individuais (RNAms) para cada proteína e um molde completo são transcritos do genoma. A replicação ocorre no citoplasma. As proteínas se associam ao novo genoma e o nucleocapsídeo se associa à matriz e às glicoproteínas modificadas da membrana plasmática. O vírus é liberado da célula por brotamento. (–), Sentido negativo; (+) sentido positivo; RE, retículo endoplasmático; VSR, vírus

Vírus do Sarampo

O sarampo é um dos cinco exantemas clássicos da infância, juntamente com a rubéola, o exantema súbito, o eritema infeccioso e a catapora (ou varicela). Historicamente, o sarampo foi uma das infecções virais mais comuns e temidas, pois havia a possibilidade de sequelas graves. Antes de 1960, mais de 90% da população abaixo de 20 anos já havia sido afetada com exantema, febre alta, tosse, conjuntivite e coriza como manifestações do sarampo. O sarampo ainda é a mais proeminente causa de doença (> 10 milhões de casos ao ano) e morte (120.000 mortes em 2012) no mundo inteiro em populações não vacinadas. O desenvolvimento de programas de vacinação eficazes tornou o sarampo uma doença rara em países desenvolvidos, mas crianças continuam a não ser vacinadas ou a não receber os reforços da vacina, e por isso ocorrem surtos de sarampo.

Patogênese e Imunidade

O vírus do sarampo liga-se ao CD46 (proteína de cofator de membrana [MCP]) presente na maioria dos tipos celulares, à nectina 4 em células epiteliais e também ao CD150 (molécula sinalizadora da ativação de linfócitos [SLAM]), que é expressa em células T e B ativadas. O sarampo é conhecido pela sua propensão em produzir fusão celular, acarretando formação de células gigantes (Quadro 48-2), e pela capacidade de passar diretamente célula a célula para escapar da ação dos anticorpos. A produção dos vírus dá-se com eventual lise celular. As infecções persistentes, sem a ocorrência de lise celular, podem ser descritas em alguns tipos celulares (p. ex., células do cérebro humano).



Quadro 48-2 Mecanismos Patológicos do Vírus do Sarampo

- O vírus infecta as células epiteliais do trato respiratório.
- O vírus se dissemina de forma sistêmica nos linfócitos e por viremia.
- O vírus se replica em células da conjuntiva, trato respiratório, trato urinário, sistema linfático, vasos sanguíneos e sistema nervoso central (SNC).
- O exantema é causado pela resposta imune das células T às células epiteliais infectadas pelo vírus que revestem os capilares.
- O vírus provoca imunossupressão.
- A imunidade celular é essencial no controle da infecção.
- As sequelas no SNC podem ocorrer em consequência de uma imunopatogênese (encefalite pós-infecciosa por sarampo) ou no desenvolvimento de mutações no vírus (panencefalite esclerosante subaguda).

O sarampo é **altamente contagioso** e é transmitido de pessoa a pessoa através de **gotículas respiratórias** (Fig. 48-3). Após replicação do vírus nas células epiteliais do trato respiratório, o vírus infecta monócitos e linfócitos e se propaga pelo sistema linfático e por uma viremia associada às células. A ampla disseminação do vírus causa infecção da conjuntiva, do trato respiratório, do trato urinário, de capilares sanguíneos, do sistema linfático e do sistema nervoso central. O característico exantema **maculopapular** do sarampo é causado pelas células T do sistema imune que foram direcionadas às células endoteliais infectadas pelo sarampo e que revestem os capilares sanguíneos. A recuperação sucede o aparecimento do exantema na maioria dos pacientes, que posteriormente desenvolvem **imunidade vitalícia** ao vírus. Entretanto, podem ocorrer mortes decorrentes de pneumonia, diarreia ou encefalite. O tempo de duração da infecção por sarampo é mostrado na Figura 48-4.

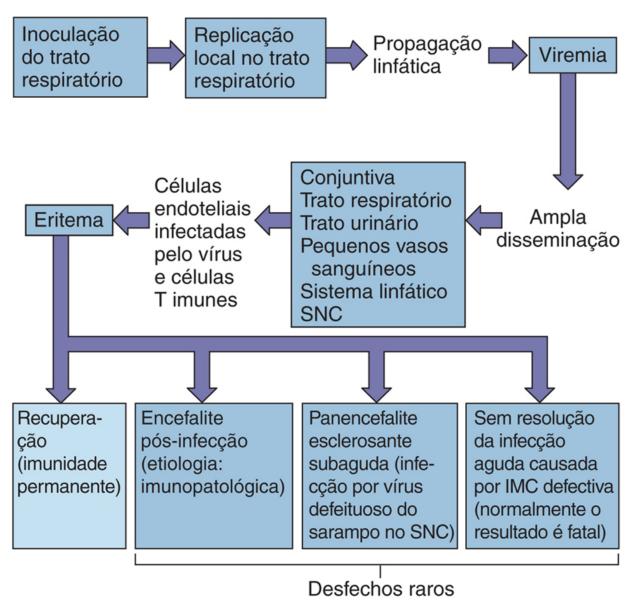


FIGURA 48-3 Mecanismos de disseminação do vírus do sarampo no corpo e a patogênese do sarampo. *IMC*, imunidade mediada por células; *SNC*, sistema nervoso central.

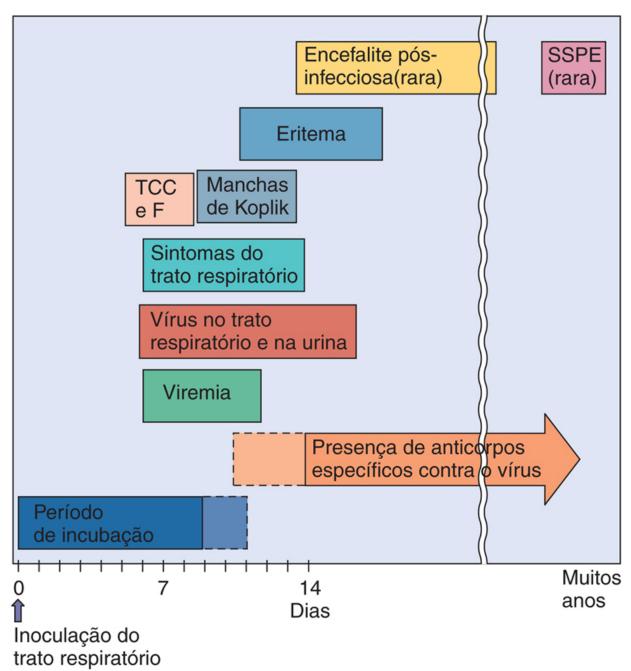


FIGURA 48-4 Curso da infecção pelo sarampo. Os sintomas prodrômicos característicos são tosse, conjuntivite, coriza e fotofobia (*TCC e F*), acompanhados pelo aparecimento das manchas de Koplik e exantema. *SSPE*, panencefalite esclerosante subaguda.

O sarampo pode acarretar encefalite de três maneiras: (1) infecção direta dos neurônios, (2) encefalite pós-infecção, a qual se acredita ser mediada pelo sistema imune, e (3) panencefalite esclerosante subaguda (SSPE, *subacute sclerosing panencephalitis*) causada por uma variante defeituosa do sarampo que foi gerada na fase aguda da doença. O vírus SSPE replica-se fracamente, permanece associado à célula e provoca sintomas e efeitos citopatológicos em neurônios muitos anos após a fase aguda da doença.

O sarampo e outros paramixovírus são excelentes indutores de interferon (IFN)- α e IFN- β , mas também têm mecanismos que antagonizam a sua ação. A imunidade celular é responsável pela maioria dos sintomas, mas também é essencial no controle da infecção do sarampo. Crianças deficientes em células T, que foram infectadas com o sarampo, produzem, de forma atípica, **pneumonia por células gigantes sem exantema**. O sarampo é mais grave em indivíduos com deficiência de vitamina A. A vitamina A é importante para a função das células T efetoras e para a resolução da infecção do sarampo. Os anticorpos, incluindo os anticorpos maternos e a imunização passiva, podem impedir a viremia, mas não a disseminação célula-célula do vírus para prevenir ou diminuir a doença. A proteção contra a reinfecção é vitalícia.

A infecção do sarampo é imunossupressora. O vírus deprime a resposta imune (1) por meio da infecção direta de monócitos e células T e B, e (2) por deprimir a produção de interleucina (IL)-12 e a resposta de células T auxiliares, tipo TH1. A depressão das respostas imunológicas mediada por células e de hipersensibilidade tardia (DTH, *delayed-type hypersensitivity*) aumenta o risco de infecções oportunistas e outras infecções concomitantes. Essa imunossupressão dura semanas ou meses após a infecção.

Epidemiologia

O desenvolvimento de programas de vacinação eficazes tornou o sarampo uma doença rara nos Estados Unidos. Em áreas onde não existe programa de vacinação, as epidemias tendem a ocorrer em um ciclo de 1-3 anos, quando o número de pessoas suscetíveis é acumulado. Muitos desses casos acontecem em crianças na idade pré-escolar que não foram vacinadas e vivem em grandes áreas urbanas. A incidência da infecção tem picos nos meses de inverno e primavera. O sarampo ainda é comum em pessoas que vivem nos países em desenvolvimento, especialmente em indivíduos que rejeitam a imunização ou que não receberam o reforço vacinal em seus anos de adolescência. Pacientes imunocomprometidos, desnutridos e com deficiência de vitamina A com sarampo podem não conseguir superar a infecção, o que pode resultar em morte. Isso representa a principal causa de morte em crianças de 1-5 anos em muitos países.

O sarampo, que é disseminado em secreções respiratórias antes e após o início dos sintomas característicos, representa uma das infecções mais contagiosas já conhecidas (Quadro 48-3). Por exemplo, em um mesmo domicílio familiar, cerca de 90% das pessoas expostas e suscetíveis são infectadas; 95% dessas desenvolvem a doença clínica.



Quadro 48-3 Epidemiologia do Sarampo

Doença/Fatores Virais

O vírus apresenta um vírion grande e envelopado que pode ser facilmente inativado por meio de ressecamento e acidez. O período de contágio precede os sintomas.

A infecção é limitada a humanos.

Existe somente um único sorotipo.

A imunidade adquirida é vitalícia.

Transmissão

Inalação de gotículas de aerossóis

Quem Está sob Risco?

Pessoas não vacinadas

Pessoas desnutridas apresentam evolução para quadros mais graves

Pessoas imunocomprometidas manifestam evolução para quadros mais graves

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo

O vírus é endêmico do outono até a primavera, possivelmente por causa das aglomerações em ambientes fechados

Modos de Controle

Vacina viva atenuada (as variantes Schwartz ou Moraten da vacina original Edmonston B) pode ser administrada. Imunoglobulina pode ser administrada após exposição ao vírus.

O vírus do sarampo possui um único sorotipo, infectando somente humanos, e, em geral, a infecção se manifesta com sintomas. Essas características facilitaram o desenvolvimento de um programa de vacina eficaz. Uma vez que a vacinação foi introduzida, a incidência anual do sarampo foi reduzida dramaticamente nos Estados Unidos, de 300 para 1,3/100.000 (estatísticas norte-americanas de 1981 a 1988). Tal mudança representou redução de 99,5% da incidência de infecção em relação aos anos de 1955 a 1962 (pré-vacinação). A incidência de sarampo deve ser notificada aos departamentos de saúde estadual e federal.

Apesar da eficácia demonstrada pelos programas de vacinação, a população ainda não vacinada (crianças < 2 anos) e a falta de adesão de alguns à vacinação dão continuidade à existência de indivíduos suscetíveis. O vírus pode surgir de uma comunidade ou pode ser importado pela imigração de regiões do mundo onde não existe programa de vacinação. Os surtos de sarampo ocorrem com certa frequência nos Estados Unidos, França e Inglaterra. Em 2011, a maior parte dos casos de sarampo ocorridos nos Estados Unidos foi importada de outros países, e a maioria dos pacientes não tinha sido vacinada. Por exemplo, um surto de sarampo em uma creche americana (10 crianças com idade abaixo da permitida para vacina e dois adultos) foi rastreado até sua fonte, que era uma criança das Filipinas.

Síndromes Clínicas

O sarampo é uma doença febril grave (Tabela 48-3). O período de incubação dura de 7-13 dias, e o pródomo inicia com **febre alta** e **"TCCF"** — **tosse**, **coriza**, **conjuntivite** e **fotofobia**. Essa fase da doença é a mais infecciosa.



Consequências Clínicas da Infecção pelo Vírus do Sarampo

Distúrbio	Sintomas
Sarampo	Exantema maculopapular característico, tosse, conjuntivite, coriza, fotofobia, manchas de Koplik Complicações: otite média, crupe, pneumonia, cegueira e encefalite
Sarampo atípico	Exantema mais intenso (mais proeminente nas áreas distais); possível ocorrência de vesículas, petéquias, púrpura ou urticária
Encefalite pósinfecciosa por sarampo	Início agudo de dor de cabeça, confusão, vômitos, possível coma após dissipar a erupção
Panencefalite esclerosante subaguda	Manifestações no sistema nervoso central (p. ex., alterações de personalidade, comportamento e memória; contrações musculares mioclônicas; espasmos; cegueira)

Após dois dias dos sintomas prodrômicos da doença aparecem as lesões típicas na membrana mucosa e conhecidas como **manchas de Koplik** (Fig. 48-5). Essas manchas são observadas geralmente na mucosa bucal próximo aos molares, podendo ainda aparecer em outras membranas de mucosa, como a conjuntiva e a vagina. As lesões vesiculares, que persistem de 24-48 horas, são geralmente pequenas (1 a 2 mm) e mais bem descritas como grãos de sal cercados por um halo vermelho. Essa aparência característica juntamente com os outros sinais da doença estabelece diagnóstico seguro de sarampo.



FIGURA 48-5 Manchas de Koplik na boca e exantema. As manchas de Koplik normalmente precedem o exantema de sarampo e ainda podem ser observadas 1-2 dias após o aparecimento do exantema. (Cortesia do Dr. Jl Pugh, St Albans City Hospital, West Hertfordshire, England; de Emond RTD, Rowland HAK: A color atlas of infectious diseases, ed 3, London, 1995, Mosby.)

Dentro de 12-24 horas do aparecimento das manchas de Koplik, o **exantema** do sarampo começa atrás das orelhas e se espalha por todo o corpo. O **exantema é maculopapular**, em geral de grande extensão, e frequentemente as lesões se

tornam confluentes. As lesões levam de 1-2 dias para cobrir o corpo e desaparecem da mesma maneira que apareceram.		
febre se apresenta mais alta no dia do aparecimento das lesões, deixando o paciente mais abatido (Fig. 48-6).		

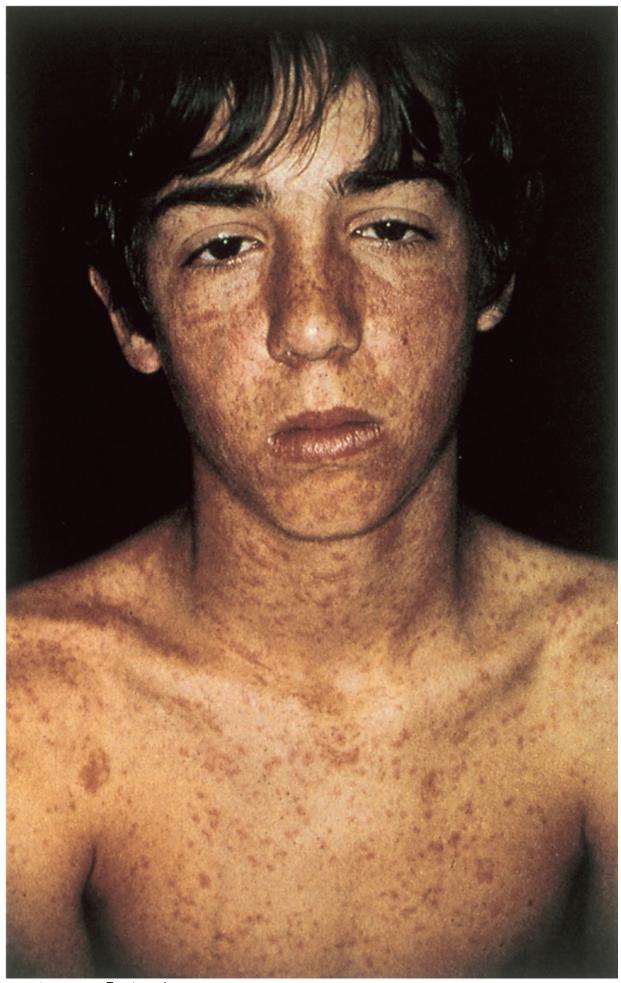


FIGURA 48-6 Exantema do sarampo. (De Habif TP: Clinical dermatology: color guide to diagnosis and therapy, St Louis, 1985, Mosby.)

A **pneumonia**, que pode ser uma séria complicação, representa 60% das causas de óbito por sarampo. Semelhante à incidência de outras complicações associadas ao sarampo, a mortalidade associada a pneumonia é alta nos casos de

desnutrição e nas faixas etárias extremas. A **superinfecção bacteriana** é comum em pacientes com pneumonia causada pelo vírus do sarampo.

Complicação mais indesejada do sarampo é a **encefalite**, que ocorre em menos de 0,5% dos infectados, porém com taxa de óbito de 15%. A encefalite raramente surge na fase aguda da doença, mas costuma começar 7-10 dias após o início da enfermidade. A **encefalite pós-infecciosa** é ocasionada por reações imunopatogênicas, é associada a desmielinização dos neurônios e se apresenta, com mais frequência, em crianças mais velhas e em adultos.

O sarampo atípico ocorre em pessoas que receberam a antiga vacina de sarampo inativada e foram subsequentemente expostas ao tipo selvagem do vírus. Em situações raras pode ocorrer também em pessoas vacinadas com o vírus atenuado. Sensibilização anterior sem proteção suficiente pode ampliar a resposta imunopatológica à exposição ao vírus de tipo selvagem. A doença começa abruptamente e é a forma mais extrema de apresentação do sarampo.

A panencefalite esclerosante subaguda (SSPE) é extremamente grave, uma sequela neurológica tardia do sarampo que acomete cerca de sete em cada milhão de pacientes. A incidência de SSPE tem diminuído de modo marcante por causa dos programas de vacinação do sarampo.

A doença ocorre quando um vírus do sarampo defeituoso persiste no cérebro, afeta vários locais no cérebro (panencefalite) e atua como vírus lento. O vírus faz sua replicação e disseminação diretamente célula a célula, mas não é liberado. A SSPE é mais prevalente em crianças que foram inicialmente infectadas antes dos dois anos de idade e surge aproximadamente sete anos após o diagnóstico clínico do sarampo. O paciente apresenta alterações na personalidade, no comportamento, na cognição e na memória, acompanhadas de contração muscular mioclônica, cegueira, e espasmos e progride para o coma e a morte. Níveis altos de anticorpos contra o sarampo podem ser encontrados no sangue e no líquido cefalorraquidiano de pacientes com SSPE. O antígeno e o genoma do sarampo podem ser detectados nos neurônios, bem como nos corpos de inclusão do tipo A Cowdry (estes corpos de inclusão são geralmente um marcador para o vírus do herpes simples, mas também são vistos em SSPE).

Uma criança imunocomprometida e desnutrida apresenta alto risco de desenvolver sarampo em suas formas mais graves (Caso Clínico 48-1). **Pneumonia por células gigantes sem exantema** ocorre em crianças com deficiência de imunidade de célula T. Enquanto a taxa de óbito por sarampo nos Estados Unidos é apenas de 0,1%, as taxas relacionadas com complicações, como a superinfecção bacteriana grave e pneumonia em crianças desnutridas, resultam em até 60% de mortalidade.



Caso Clínico 48-1 Sarampo em uma Criança Imunocomprometida

A ausência de uma resposta imune celular permite que a infecção por sarampo em indivíduos imunocomprometidos resulte em sérias complicações. Em um caso relatado por Pullan e colaboradores (*Br Med J* 1:1562-1565, 1976), uma criança que estava sob tratamento de leucemia linfoblástica aguda (LLA) com quimioterapia recebeu imunoglobulina após três dias de exposição ao vírus do sarampo. Apesar da terapia com IgG, 23 dias após a exposição a criança desenvolveu exantema extenso que se tornou hemorrágico. A criança teve febre de 39,5° C e broncopneumonia. O vírus foi isolado a partir de secreções nasofaríngeas, e células gigantes (sincícios) foram identificadas por meio da imunohistoquímica, que demonstrou a presença de antígenos virais do sarampo nessas secreções. A quimioterapia foi interrompida e ela recebeu várias doses maciças de imunoglobulina. Ela apresentou quadro de melhora um mês após o início do aparecimento do exantema.

Em outro caso, durante os 2,5 anos em que um menino esteve sob tratamento para LLA, ele sofreu de infecções graves pelo vírus do herpes simples ao redor da boca e herpes-zóster no tronco. No terceiro ano de terapia ele foi exposto ao vírus do sarampo por meio de sua irmã e recebeu IgG. Após 19 dias desenvolveu sintomas respiratórios brandos, sem exantema. Após 29 dias se recusou a ir para a escola e teve mau comportamento; seu comportamento alterou-se progressivamente. Após nove semanas ele desenvolveu convulsão motora, aumento de sonolência, dificuldade de fala e confusão que progrediu ao coma e óbito após oito dias do início das convulsões. A sorologia indicou ausência de anticorpos contra o sarampo. A autópsia indicou a presença de citomegalovírus nos pulmões e ausência do vírus do sarampo. O cérebro mostrou degeneração extensa, mas nenhum vírus foi isolado. Os cortes cerebrais indicavam grandes corpos de inclusão intranucleares e citoplasmáticos com estruturas tubulares que pareciam nucleocapsídeos de sarampo no citoplasma. A imunofluorescência com anticorpos de indivíduos com panencefalite esclerosante subaguda (SSPE) ou anticorpos antissarampo indicou a presença de antígenos virais de sarampo. Estes casos ilustram a patologia exacerbada que o vírus do sarampo pode causar na ausência de resposta competente por células T. A ausência do controle imunológico permitiu a progressão do vírus até o cérebro, no qual ele ou uma variante (SSPE) foi responsável pela patologia que resultou na encefalite.

Diagnóstico Laboratorial

As manifestações clínicas do sarampo são normalmente muito características e raramente se faz necessária a realização de testes laboratoriais para estabelecer um diagnóstico. O vírus do sarampo não deve ser isolado. Secreções do trato respiratório, urina, sangue e tecido cerebral são os espécimes recomendados. É melhor que sejam coletados espécimes sanguíneos e respiratórios durante o pródomo e até 1-2 dias depois do surgimento do exantema. O antígeno do sarampo pode ser detectado utilizando-se imunofluorescência em células da faringe ou em sedimentos da urina; o genoma do

sarampo pode ser identificado por meio da reação em cadeia da polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) nas secreções do trato respiratório, urina, sangue e tecido cerebral. Os efeitos citopatológicos característicos, incluindo as células gigantes multinucleadas apresentando corpos de inclusão no citoplasma, podem ser visualizados pela coloração das células do trato superior respiratório e sedimentos da urina corados com Giemsa.

Os anticorpos, especialmente a imunoglobulina (Ig)M, podem ser detectados quando há exantema.

Tratamento, Prevenção e Controle

Como mencionado anteriormente, uma vacina viva e atenuada de sarampo em uso nos Estados Unidos desde 1963 tem sido responsável por redução significativa na incidência de sarampo. As cepas atenuadas Schwartz ou Moraten da vacina original Edmonston B estão sendo utilizadas atualmente. A vacina viva e atenuada é aplicada em todas as crianças após 12 meses de idade, em combinação com a da caxumba e da rubéola (vacina contra sarampo-caxumba-rubéola [MMR]) e a vacina de varicela (Quadro 48-4). Embora a imunização na primeira infância seja bem-sucedida em mais de 95% das vacinas, a revacinação antes do período escolar primário ou secundário é exigida em muitos estados americanos. Devido à natureza altamente contagiosa do sarampo, a imunidade de grupo induzida pela vacinação é muito importante para prevenir a propagação do vírus na população. Uma diminuição da população imunizada para os 93% cria um risco de surto de sarampo. A complacência ou má informação sobre os riscos da imunização faz com que muitos pais se abstenham de vacinar os seus filhos, colocando-os em risco de infecção e de doença, e tornando-os fontes de contágio para os outros indivíduos.



Quadro 48-4 Vacina Sarampo-Caxumba-Rubéola

Composição: vírus vivos atenuados

Sarampo: variantes Schwartz ou Moraten da cepa original Edmonston B

Caxumba: cepa Jeryl Lynn Rubéola: cepa RA/27-3

Esquema de vacinação: após 12 meses de idade e reforço aos 4-6 anos ou antes do ensino médio (12 anos*)

Eficiência: 95% de imunização vitalícia em uma única dose

Dados de atualização da imunização em adultos. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP), MMWR Recomm Rep 40(RR-12):1-94, 1991.

Como o sarampo é um vírus estritamente humano com um único sorotipo, ele é candidato excelente para erradicação, porém é impedido pelas dificuldades na distribuição da vacina em regiões onde não há condições apropriadas de refrigeração (p. ex., África) e dificuldades na própria rede de distribuição.

Os hospitais em áreas endêmicas de sarampo podem vacinar ou verificar a imunidade de seus empregados, a fim de diminuir o risco de transmissão nosocomial. Mulheres grávidas, indivíduos imunocomprometidos e pessoas alérgicas a gelatina ou neomicina (componentes da vacina) não devem receber a vacina MMR. Aos indivíduos suscetíveis que foram expostos e são imunocomprometidos deve ser aplicada imunoglobulina para diminuir os riscos e a gravidade da doença. Esse produto se torna mais eficiente se aplicado dentro de seis dias após a exposição. O tratamento com altas doses de vitamina A reduz o risco de mortalidade por sarampo e é recomendado pela Organização Mundial da Saúde. Não existe tratamento antiviral específico disponível para o sarampo.

Vírus Parainfluenza

Os vírus parainfluenza, que foram descobertos no fim da década de 1950, são vírus respiratórios que normalmente causam sintomas brandos como os do resfriado, porém também ocasionam doença grave do trato respiratório. Quatro tipos sorológicos dentro do gênero parainfluenza são patógenos humanos. Os tipos 1, 2 e 3 estão em segundo lugar, perdendo apenas para o VSR como principal causa de infecção grave do trato respiratório inferior em bebês e crianças. Esses vírus estão especialmente associados a laringotraqueobronquite (crupe). O tipo 4 provoca infecção benigna no trato respiratório superior em crianças e adultos.

Patogênese e Imunidade

Os vírus parainfluenza infectam as células epiteliais do trato respiratório superior (Quadro 48-5). O parainfluenza se replica mais rapidamente do que os vírus do sarampo e da caxumba e pode ocasionar a formação de células gigantes e lise celular. Ao contrário dos vírus do sarampo e da caxumba, os vírus parainfluenza raramente causam viremia. Os vírus, em geral, se alojam no trato respiratório superior, originando apenas sintomas comuns do resfriado. Em cerca de 25% dos

^{*} Nota da revisão científica: o calendário vacinal prevê esta vacina em idades diferentes das descritas aqui, que são referentes ao calendário americano.

casos, o vírus se propaga até o trato respiratório inferior, e em 2% a 3%, a doença assume a forma mais grave de laringotraqueobronquite.



Quadro 48-5 Mecanismos Patológicos dos Vírus da Parainfluenza

Existem quatro sorotipos dos vírus.

A infecção é **limitada ao trato respiratório**; a doença no trato respiratório superior é mais comum, porém a infecção no trato respiratório inferior pode desenvolver enfermidades importantes.

Os vírus da parainfluenza não causam viremia ou disseminação sistêmica.

As doenças incluem sintomas semelhantes aos do resfriado, bronquite (inflamação dos brônquios)

e crupe (laringotraqueobronquite).

A infecção induz imunidade protetora de curta duração.

A reposta imunocelular causa tanto dano celular como confere proteção. A resposta por IgA é protetora, porém fugaz. Os vírus parainfluenza conseguem manipular a imunidade celular, a fim de limitar o desenvolvimento da memória imunológica. A existência de múltiplos sorotipos e a curta duração da imunidade após infecção natural tornam a reinfecção muito comum, porém mais branda, sugerindo, no mínimo, imunidade parcial.

Epidemiologia

Os vírus parainfluenza são ubíquos, e sua infecção é bastante comum (Quadro 48-6). O vírus é transmitido pelo contato pessoa a pessoa por meio de gotículas respiratórias. As infecções primárias normalmente ocorrem em bebês e crianças menores de cinco anos de idade. As reinfecções acontecem por toda a vida, o que indica imunidade de curta duração. As infecções por parainfluenza 1 e 2, os principais responsáveis pelo crupe, tendem a ocorrer no outono, enquanto as infecções com o parainfluenza 3 sucedem ao longo do ano. Todos esses vírus se propagam rapidamente em hospitais e podem provocar surtos em enfermarias e unidades pediátricas.



Quadro 48-6 Epidemiologia das Infecções do Vírus da Parainfluenza

Doença/Fatores Virais

O vírion possui um grande envelope que é facilmente inativado por meio de ressecamento e acidez.

O período de contágio precede o aparecimento de sintomas e pode ocorrer na ausência de sintomas.

A gama de hospedeiros é limitada a humanos.

A reinfecção pode ocorrer durante a vida.

Transmissão

Inalação de gotículas de aerossóis

Quem Está sob Risco?

Crianças: risco de doença branda ou crupe

Adultos: risco de reinfecção com sintomas brandos

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é ubíquo e distribuído em todo o mundo.

A incidência é sazonal

Modo de Controle

Não existe modo de controle da infecção.

Síndromes Clínicas

Os vírus parainfluenza 1, 2 e 3 podem causar síndrome no trato respiratório, variando de **resfriado com infecção do trato respiratório superior** (coriza, faringite, bronquite, chiado e febre) até **bronquiolite** e **pneumonia**. Crianças maiores e adultos geralmente têm infecções mais brandas do que aquelas observadas em crianças pequenas, apesar de a pneumonia ocorrer com mais frequência em idosos.

A infecção pelo vírus parainfluenza pode ser mais grave em crianças do que em adultos, causando bronquiolite, pneumonia e mais particularmente o crupe (laringotraqueobronquite). O **crupe** traz como consequência um edema subglótico com possível obstrução da via respiratória. Sintomas como rouquidão, "tosse de cachorro", taquipneia, taquicardia e retração supraesternal desenvolvem-se em pacientes infectados após 2-6 dias de período de incubação. A maioria das crianças se recupera dentro de 48 horas. O principal diagnóstico diferencial é a epiglotite causada por *Haemophilus influenzae*.

Diagnóstico Laboratorial

O vírus parainfluenza é isolado a partir de lavado nasal e secreções respiratórias e cresce bem em culturas celulares primárias de rim de macaco. Semelhantemente a outros paramixovírus, os vírus se tornam instáveis durante o transporte ao laboratório. A presença de células infectadas nos aspirados ou em cultura celular é indicada pela observação de sincícios e confirmada por imunofluorescência. Assim como a hemaglutinina do vírus influenza, a hemaglutinina do vírus parainfluenza promove hemadsorção e hemaglutinação. O sorotipo pode ser determinado por meio do uso de anticorpos específicos que bloqueiam a hemadsorção ou a hemaglutinação (inibição da hemaglutinação). As técnicas rápidas de RT-PCR são os métodos de escolha para detectar e identificar os vírus parainfluenza em secreções respiratórias.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento do crupe consiste na administração de nebulização fria ou quente e no monitoramento cuidadoso da via aérea superior. A entubação pode ser necessária em ocasiões raras. Não existe um antiviral específico disponível.

A vacinação com a vacina de vírus atenuados não é eficaz, possivelmente por não ser capaz de induzir anticorpos secretórios locais e imunidade celular adequada.

Vírus da Caxumba

O vírus da caxumba causa uma **parotidite** aguda e benigna (inflamação dolorosa nas glândulas salivares). A caxumba é rara em países que utilizam a vacina viva, que é administrada com as vacinas de sarampo e rubéola, mas surtos têm ocorrido recentemente.

O vírus da caxumba foi isolado em ovos embrionados em 1945 e em cultura celular em 1955. O vírus é estreitamente relacionado com o vírus parainfluenza 2, porém não há evidências de imunidade cruzada com os vírus parainfluenza.

Patogênese e Imunidade

O vírus da caxumba, com somente um único sorotipo conhecido, causa infecção lítica nas células (Quadro 48-7). O vírus inicia a infecção nas células epiteliais do trato respiratório superior, infectando a glândula parótida tanto via ducto de Stensen quanto por viremia. O vírus se propaga por viremia por todo o corpo até testículos, ovários, pâncreas, tireoide e outros órgãos. A infecção no sistema nervoso central, sobretudo nas meninges, ocorre em 50% dos infectados (Fig. 48-7). As respostas inflamatórias causam inchaço das glândulas e são as principais responsáveis pelos sintomas. O tempo de duração da infecção em humanos é mostrado na Figura 48-8. A imunidade adquirida é vitalícia.



Quadro 48-7 Mecanismos Patológicos do Vírus da Caxumba

O vírus infecta as células epiteliais do trato respiratório.

O vírus se dissemina de forma sistêmica por viremia.

Infecções da glândula parótida, testículos e do sistema nervoso podem ocorrer.

O principal sintoma é o aumento das glândulas parótidas e de outras glândulas como resultado de um processo inflamatório.

A imunidade mediada por células é essencial no controle da infecção e é responsável por alguns dos sintomas. A resposta por anticorpo não é suficiente por causa da habilidade do vírus de se disseminar de célula a célula.

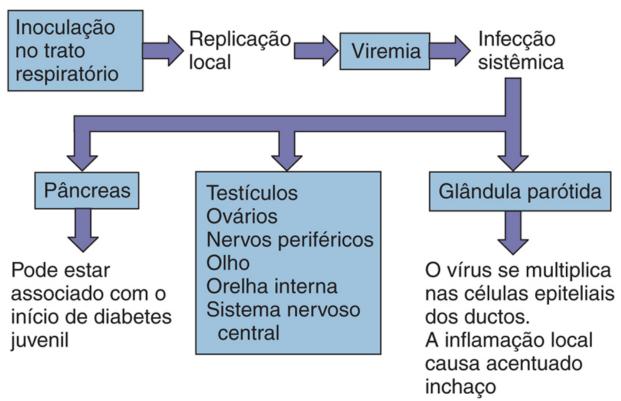


FIGURA 48-7 Mecanismo de disseminação do vírus da caxumba no corpo.

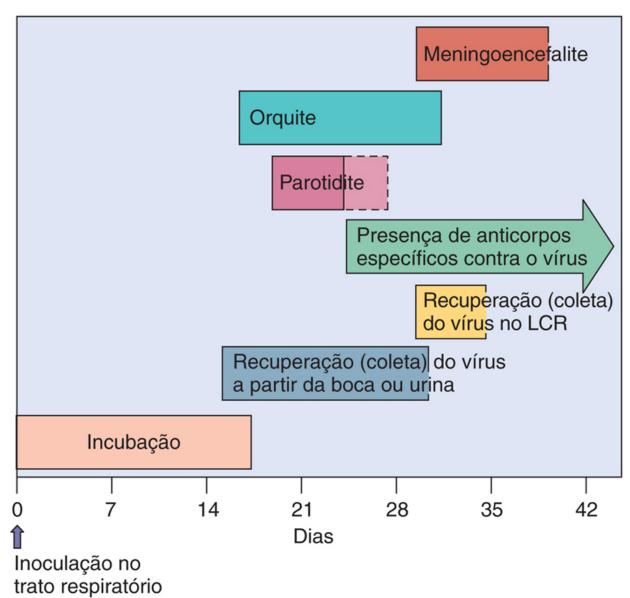


FIGURA 48-8 Curso da infecção pelo vírus da caxumba. LCR, Líquido cefalorraquidiano.

Epidemiologia

A caxumba, como o sarampo, é uma doença bastante contagiosa, com um único sorotipo, e infecta somente humanos (Quadro 48-8). Na ausência de programas de vacinação, a infecção acomente 90% das pessoas até a idade de 15 anos. O vírus é disseminado no contato pessoa a pessoa por meio de gotículas respiratórias. O vírus é liberado em secreções respiratórias de pacientes assintomáticos e durante o período de incubação de sete dias antes de a doença clínica aparecer; portanto, é praticamente impossível o controle da disseminação do vírus. Morar ou trabalhar em lugares aglomerados favorece a disseminação do vírus, e a incidência de infecção é maior no inverno e na primavera.



Doença/Fatores Virais

O vírion possui um envelope grande que é facilmente inativado por ressecamento e acidez.

O período de contágio precede o aparecimento dos sintomas.

Pode ocorrer a eliminação assintomática do vírus.

A gama de hospedeiros é limitada a humanos.

Existe somente um sorotipo.

A imunidade adquirida é vitalícia.

Transmissão

Inalação de gotículas de aerossóis.

Quem Está sob Risco?

Pessoas não vacinadas

Pessoas imunocomprometidas apresentam evolução para quadros mais graves

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado em todo o mundo.

O vírus é endêmico no fim do inverno até o início da primavera.

Modo de Controle

Vacina viva e atenuada (cepa Jeryl Lynn) é parte da vacina sarampo-caxumba-rubéola.

Síndromes Clínicas

A infecção por caxumba é frequentemente assintomática. A doença clínica normalmente se manifesta como uma parotidite quase sempre bilateral e acompanhada de febre. Os primeiros sintomas são repentinos. No exame oral são observados vermelhidão e inchaço do óstio do ducto de Stensen (parótida). A inflamação de outras glândulas (epididimorquite, ooforite, mastite, pancreatite e tireoidite) e meningoencefalite podem ocorrer alguns dias depois do início dos sintomas da infecção viral, mas também podem acontecer na ausência de parotidite. O processo inflamatório resultante de orquite pelo vírus da caxumba pode acarretar esterilidade. O vírus da caxumba atinge o sistema nervoso central em cerca de 50% dos pacientes; 10% dos afetados podem apresentar meningite branda e encefalite em 5 a cada 1.000 casos.

Diagnóstico Laboratorial

O vírus pode ser coletado em saliva, urina, faringe, secreções do ducto de Stensem e líquido cefalorraquidiano. O vírus está presente na saliva por cerca de cinco dias após o início dos sintomas e na urina por até duas semanas. O vírus da caxumba cresce bem em células de rim de macaco, resultando em formação de células gigantes multinucleadas. A hemadsorção de eritrócitos de cobaias também se dá em células infectadas pelos vírus por causa da hemaglutinina viral.

Um diagnóstico clínico pode ser confirmado por detecção de genomas virais por RT-PCR ou por teste de ELISA, imunofluorescência e testes de inibição da hemaglutinação para detectar o antígeno ou anticorpo da caxumba.

Tratamento, Prevenção e Controle

As vacinas fornecem a única maneira eficaz de prevenir a disseminação da infecção por caxumba. Desde a introdução da vacina viva e atenuada (vacina Jeryl Lynn) nos Estados Unidos em 1967 e a sua administração como parte da vacina MMR, a incidência anual da infecção diminuiu de 76 para menos de 1 por 100.000 até recentemente. Tal como acontece com o sarampo, têm ocorrido surtos devido ao aumento do número de indivíduos que são não vacinados ou não receberam a imunização de reforço. Em 2014, houve um surto em Columbus, Ohio, em escolas e universidades, com mais de 230 casos reportados. Agentes antivirais não estão disponíveis.

Vírus Sincicial Respiratório

O VSR, que foi primeiramente isolado de um chimpanzé em 1956, é um membro do gênero *Pneumovirus*. A glicoproteína do VSR não se liga ao ácido siálico ou às hemácias e, portanto, o vírus não precisa ter uma neuraminidase. Representa a causa mais comum de **infecção aguda fatal do trato respiratório** em bebês e crianças. Infecta praticamente todas as pessoas até os dois anos de idade e as reinfecções ocorrem por toda a vida, mesmo entre os idosos.

Patogênese e Imunidade

O VSR produz uma infecção que se localiza no trato respiratório (Quadro 48-9). Como o nome sugere, o VSR leva à formação de sincícios. O efeito patológico do VSR é causado pela invasão direta do vírus no epitélio respiratório, acompanhada do dano celular provocado pela resposta imune. A necrose de brônquios e bronquíolos resulta em formação de um tampão mucoso, fibrina e material necrótico dentro das pequenas vias aéreas. As vias aéreas estreitas dos bebês ficam rapidamente obstruídas por esses tampões. A imunidade natural não previne reinfecção e a vacinação, com a vacina contendo vírus atenuados, parece agravar o quadro da doença subsequente.



Quadro 48-9 Mecanismos Patológicos do Vírus Sincicial Respiratório

O vírus causa infecção localizada no trato respiratório.

O vírus não provoca viremia ou disseminação sistêmica.

A pneumonia resulta da disseminação citopatológica do vírus (incluindo a formação de sincícios).

A bronquiolite está mais relacionada com resposta imune do hospedeiro.

As vias aéreas mais estreitas dos bebês são facilmente obstruídas pelos efeitos patológicos da infecção do vírus.

O anticorpo materno é insuficiente para proteger o bebê da infecção.

A infecção natural não previne possível reinfecção.

Epidemiologia

O VSR é bastante prevalente em crianças pequenas; praticamente todas as crianças já foram infectadas até os dois anos de idade (Quadro 48-10). As taxas anuais de infecção são de até 64 milhões de casos, e a mortalidade, de até 160 mil. De 25% a 40% desses casos envolvem o trato respiratório inferior e 1% apresenta quadro clínico grave com hospitalização (95 mil crianças ao ano nos Estados Unidos).



Quadro 48-10 Epidemiologia do Vírus Sincicial Respiratório

Doença/Fatores Virais

O vírion possui um grande envelope que é facilmente inativado por ressecamento e acidez.

O período de contágio precede o aparecimento dos sintomas e pode ocorrer mesmo na ausência de sintomas.

A gama de hospedeiros é limitada a humanos.

Transmissão

Inalação de gotículas de aerossóis.

Quem Está sob Risco?

Bebês: infecção do trato respiratório inferior (bronquiolite e pneumonia)

Neonatos prematuros: doença grave

Crianças: o risco pode variar de doença branda a pneumonia.

Adultos: risco de reinfecção com sintomas brandos.

Indivíduos imunocomprometidos, com problemas cardíacos e pulmonares crônicos: doença grave.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é ubíquo e encontrado em todo o mundo.

A incidência do vírus é sazonal.

Modos de Controle

A imunoglobulina está disponível para bebês de alto risco.

A ribavirina em aerossol está disponível para bebês com complicações graves.

As infecções por VSR quase sempre acontecem no inverno. Ao contrário de influenza, que pode, às vezes, pular um ano, a epidemia por VSR ocorre anualmente.

O vírus é altamente contagioso, com período de incubação de 4-5 dias. O vírus é eliminado nas secreções respiratórias durante muitos dias após a infecção, especialmente por crianças. O vírus é transmitido em aerossóis, mas também através das mãos e fômites contaminados.

A introdução do vírus em enfermarias pediátricas, em especial em unidades de tratamento intensivo, pode ser devastadora. Virtualmente todos os bebês são infectados e a infecção está associada a morbidade alta e ocasionalmente resulta em óbito. As crianças nascidas prematuramente e crianças com idade inferior a 2 anos com doença cardíaca congênita complicada ou doença pulmonar crônica estão em alto risco de contrair doença grave por VSR. Surtos de doença grave podem ocorrer também entre a população mais idosa (p. ex., em lares de idosos).

Síndromes Clínicas (Quadro 48-11)

O VSR pode causar qualquer doença no trato respiratório, desde **resfriado comum** até **pneumonia** (Tabela 48-4). A infecção no trato respiratório superior com proeminente rinorreia (corrimento nasal) é muito comum em crianças e adultos. Quadro mais grave da doença no trato respiratório inferior, a **bronquiolite**, pode ocorrer em bebês. Em consequência da inflamação nos bronquíolos, há bloqueio aéreo e diminuição da ventilação. Clinicamente, o paciente apresenta febre baixa, taquipneia, taquicardia e sibilos expiratórios nos pulmões. A bronquiolite é autolimitada, porém deve ser observada com atenção em bebês. Pode ser fatal em bebês prematuros, pessoas com histórico de doença pulmonar e imunocomprometidos.



Consequências Clínicas da Infecção pelo Vírus Sincicial Respiratório

Distúrbio	Grupo Etário Afetado	
Bronquiolite, pneumonia ou ambas	Febre, tosse, dispneia e cianose em crianças < 1 ano Pneumonia nos idosos ou nos indivíduos com doença cardíaca crônica, doença pulmonar crônica ou imunocomprometidos	
Rinite febril e faringite	Crianças	
Resfriado	Crianças e adultos	



Quadro 48-11 Resumos Clínicos

Sarampo: Uma mulher de 18 anos ficou em casa por 10 dias, após viagem ao Haiti, por apresentar febre, tosse, corrimento nasal e discreto eritema nos olhos. Este quadro evoluiu para olhos bastante avermelhados e exantema em face, tronco e extremidades. Também exibe muitas lesões esbranquiçadas de 1 mm no interior da boca. Ela nunca foi vacinada contra o sarampo por ser portadora de irrelevante "alergia ao ovo".

Caxumba: Um homem de 30 anos, retornando de viagem à Rússia, manifestou dores de cabeça por 1-2 dias e diminuição do apetite, seguidas de inchaço em ambos os lados abaixo da mandíbula. O inchaço se estendeu da parte inferior da mandíbula até a parte posterior do ouvido. Após cinco dias do aparecimento do inchaço na mandíbula, o paciente começou a se queixar de náusea, dores abdominais e nos testículos.

Crupe: Uma criança irritável de dois anos de idade com diminuição do apetite apresenta garganta inflamada, febre, rouquidão e "tosse de cachorro". Som de alta frequência (estridor) é ouvido durante a inspiração. O alargamento nas narinas indica dificuldade em respirar.

Diagnóstico Laboratorial

O VSR é de difícil isolamento em cultura celular. A presença do genoma viral em células infectadas e lavados nasais pode ser detectada por meio das técnicas de RT-PCR. Os testes de imunofluorescência e testes imunoenzimáticos estão comercialmente disponíveis para a detecção do antígeno viral.

Tratamento, Prevenção e Controle

Em crianças imunocompetentes, o tratamento é de suporte, podendo consistir em administração de oxigênio, fluidos intravenosos e nebulização fria. A **ribavirina** aerossolizada, um análogo da guanosina, está aprovada para o tratamento de crianças pequenas com doença grave, mas o seu uso é pouco frequente. A **imunização passiva profilática e terapêutica** com imunoglobulina anti-VSR ou o anticorpo monoclonal (palivizumab) estão disponíveis para crianças jovens com elevado risco de doença grave.

Crianças infectadas devem ser isoladas. As medidas de controle da infecção são necessárias para a equipe hospitalar que cuida das crianças infectadas, a fim de evitar a transmissão do vírus para pacientes não infectados. Tais medidas incluem a lavagem de mãos e o uso de jaleco, óculos e máscaras.

Não existe vacina disponível para a profilaxia do VSR. Indivíduos que receberam uma vacina anteriormente disponível contendo VSR inativado desenvolveram quadro mais grave da doença quando foram subsequentemente expostos ao vírus vivo. Acredita-se que o desenvolvimento desse quadro seja o resultado de uma resposta imune exacerbada no momento da exposição ao vírus selvagem.

Metapneumovírus Humano

O metapneumovírus humano foi reconhecido recentemente como um membro da subfamília Pneumovirinae. A utilização de RT-PCR continua sendo um recurso para detecção dos pneumovírus e diferenciação de outros vírus respiratórios. A sua identidade era desconhecida até pouco tempo, pela dificuldade de crescimento em cultura celular. O vírus é ubíquo e quase todas as crianças até cinco anos de idade já tiveram infecção pelo vírus e são soropositivas.

Como acontece com o VSR, as infecções pelo metapneumovírus humano podem ser assintomáticas, passar por resfriado comum ou até causar bronquiolite aguda e pneumonia. Crianças soronegativas, idosos e indivíduos imunocomprometidos estão em risco de adquirir a doença. Provavelmente os metapneumovírus humanos são responsáveis por cerca de 15% dos resfriados em crianças, especialmente resfriados acompanhados de complicações como a otite média. Os sinais da doença normalmente incluem tosse, garganta inflamada, corrimento nasal e febre alta. Cerca de 10% dos pacientes com metapneumovírus também apresentam chiado, dispneia, pneumonia, bronquite ou bronquiolite. Assim como os outros

agentes virais responsáveis pelo resfriado, a identificação laboratorial do vírus não é feita rotineiramente, mas pode ser realizada por meio da RT-PCR. O tratamento com medidas de suporte é a única terapia disponível nessas infecções.

Vírus Nipah e Hendra

Um paramixovírus recente, o vírus Nipah, foi isolado de pacientes após surto de encefalite aguda na Malásia e em Cingapura em 1998. O vírus Nipah está estreitamente relacionado ao vírus Hendra, descoberto em 1994 na Austrália, mais do que a qualquer outro paramixovírus. Ambos os vírus têm grande variedade de hospedeiros, incluindo suínos, humanos, caninos, equinos, felinos e outros mamíferos. Para o vírus Nipah, o reservatório é um morcego que se alimenta de frutas (raposa voadora). O vírus pode ser obtido a partir da fruta contaminada por morcegos infectados, ou por meio de suínos infectados com disseminação do vírus ao homem. O homem é um hospedeiro acidental para esses vírus, mas o desenvolvimento da infecção humana é grave. Os sinais da doença incluem sintomas parecidos com os da gripe, convulsões e coma. Entre os 269 casos que ocorreram em 1999, 108 foram fatais. Outra epidemia em Bangladesh em 2004 obteve taxa de mortalidade maior.

Referências Bibliográficas

Cann AJ. Principles of molecular virology. San Diego: Academic; 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Centers for Disease Control, Prevention:. Public-sector vaccination efforts in response to the resurgence of measles among preschool-aged children: United States, 1989-1991. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1992;41:522–525.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 4 Oxford: Oxford University Press; 2011.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Galinski MS. Paramyxoviridae: transcription and replication. Adv Virus Res. 1991;40:129-163.

Gershon A, Hotez P, Katz S. Krugman's infectious diseases of children. ed 11 St Louis: Mosby; 2004.

Griffin DE, Oldstone MM. Measles: pathogenesis and control. Curr Top Microbiol Immunol. 2009;330:1.

Hart CA, Broadhead RL. Color atlas of pediatric infectious diseases. St Louis: Mosby; 1992.

Hinman AR. Potential candidates for eradication. Rev Infect Dis. 1982;4:933-939.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Lennette EH. Laboratory diagnosis of viral infections. ed 3 New York: Marcel Dekker; 1999.

Meulen V, Billeter MA. Measles virus. Curr Top Microbiol Immunol. 1995;191:1–196.

Moss WJ, Griffen DE. Measles. Lancet. 2012;379:153-164.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

Websites

Centers for Disease Control and Prevention: Human parainfluenza viruses (HPIVs). www.cdc.gov/parainfluenza/index.html. Acessado em 4 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Measles (rubeola). www.cdc.gov/measles/index.html. Acessado em 4 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Mumps. www.cdc.gov/mumps/index.html. Acessado em 4 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Respiratory syncytial virus infection (RSV). www.cdc.gov/rsv/. Acessado em 4 de abril de 2015.

Chen SSP: Measles, 2014. http://emedicine.medscape.com/article/966220-overview. Acessado em 4 de abril de 2015.

Clinical case of SSPE. http://path.upmc.edu/cases/case595.html. Acessado em 4 de abril de 2015.

Defendi GL, Demirci CS, Abuhammour W: Mumps. http://emedicine.medscape.com/article/966678-overview. Acessado em 4 de abril de 2015.

Krilov LR: Respiratory syncytial virus (RSV) infection. http://emedicine.medscape.com/article/971488-overview. Acessado em 4 de abril de 2015.

CAPÍTULO 49

Ortomixovírus

Em 15 de abril de 2009, uma mulher de 33 anos da Califórnia, na 35ª semana de gravidez, apresentou histórico de um dia de mialgia, tosse seca e febre baixa quando examinada por seu ginecologista-obstetra. A paciente não tinha viajado recentemente ao México. Um teste rápido para detectar influenza foi realizado no consultório médico e teve resultado positivo. Em 19 de abril, ela foi examinada, em uma emergência local, com agravamento da falta de ar, febre e tosse produtiva. Ela manifestou angústia respiratória grave e foi entubada e posta em ventilação mecânica. De um parto cesáreo de emergência, nasceu uma menina saudável. Em 21 de abril, a paciente desenvolveu síndrome da angústia respiratória aguda (SARA). No dia 28 de abril, a paciente passou a receber oseltamivir e antibióticos de amplo espectro, mas não resistiu e morreu no dia 4 de maio.*

- 1. Como a mulher adquiriu a infecção?
- 2. Qual é a apresentação normal e qual a anormalidade dessa apresentação de influenza?
- 3. O que pôs a mulher em alto risco e por quê?
- 4. Como essa cepa de influenza evoluiu?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Ortomixovírus

Palavras-gatilho

Aerossóis, envelope, genoma segmentado/rearranjo genômico, hemaglutinina, neuraminidase, deslocamento antigênico [antigenic drift] (surtos), alteração antigênica [antigenic shift] (pandemia), zoonose

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho grande, com envelope, genoma de RNA (-) segmentado
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replicando-se no núcleo (exceção à regra)
- Cada segmento codifica uma ou duas proteínas
- Uma infecção mista resulta em mistura genética de segmentos: rearranjo genômico
- Liga-se ao ácido siálico (glicoproteína HA) e codifica a atividade da neuraminidase (glicoproteína NA)
- Os anticorpos podem bloquear o desenvolvimento da doença
- A resposta imune mediada por células é importante para o controle, mas causa patogênese
- A influenza A, mas não a influenza B, é uma zoonose
- Sintomas agudos semelhantes aos da gripe devido a uma grande liberação de citocinas
- Destruição extensiva de epitélio ciliado
- Pneumonia por influenza ou infecção bacteriana secundária

Epidemiologia

- Transmitidos por aerossóis
- Epidemias anuais devido a mutações, pandemias devidas ao rearranjo do genoma entre os vírus humano e animal

Diagnóstico

• Sintomatologia, análise do genoma das secreções respiratórias por RT-PCR, testes de imunologia (ELISA), hemaglutinação e inibição de hemaglutinação

Tratamento, Prevenção e Controle

- A vacina anual contém duas estirpes de influenza A e uma de influenza B: as vacinas inativadas contêm HA e NA, vacina nasal viva atenuada (dos 2 aos 49 anos)
- Inibidor da neuraminidase e fármacos antivirais amantadina/rimantadina

Os vírus influenza A, B e C são os membros mais importantes da família Ortomyxoviridae. Somente os vírus A e B da influenza causam doença humana significativa e apenas a influenza A pode ser uma zoonose. Os togotovírus são arbovírus que incluem o vírus Bourbon, transmitido por carrapatos. Esse vírus causou uma infecção letal em Bourbon, Kansas, em 2014. Os ortomixovírus são envelopados e possuem um genoma de ácido ribonucleico (RNA) segmentado com polaridade negativa. O genoma segmentado desses vírus facilita o desenvolvimento de novas cepas por meio de mutação e reagrupamento dos segmentos genéticos entre as diferentes cepas de vírus humanos e animais (influenza A). Essa instabilidade genética é responsável pelas epidemias anuais (mutação: deriva genética ou drift) e, para influenza A, pelas pandemias periódicas (rearranjo: substituição ou shift) da infecção de influenza em todo o mundo.

A gripe é uma das infecções virais mais prevalentes e importantes. A **pandemia (mundial)** de gripe mais famosa foi, possivelmente, a gripe espanhola, que varreu o mundo entre 1918 e 1919, matando de 20 a 40 milhões de pessoas. De fato, mais pessoas morreram de gripe durante aquele período do que nas batalhas da Primeira Guerra Mundial. Pandemias provocadas por novos vírus influenza ocorreram em 1918, 1947, 1957, 1968, 1977 e 2009. Felizmente, a profilaxia com vacinas e drogas antivirais está disponível.

Os vírus influenza provocam sintomas respiratórios e os clássicos sintomas gripais de febre, mal-estar, cefaleia e mialgias (dores no corpo). O termo **gripe**, no entanto, tem sido erroneamente empregado para fazer referência a muitas outras infecções respiratórias e virais (p. ex., "gripe intestinal").

Estrutura e Replicação

Os vírions da influenza são pleomórficos, de aspecto esférico ou tubular (Fig. 49-1; Quadro 49-1), variando em diâmetro de 80 a 120 nm. O envelope contém duas glicoproteínas, a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA), e a proteína de membrana (M₂), sendo internamente revestido pela proteína de matriz (M₁). O genoma dos vírus influenza A e B consiste em oito segmentos nucleocapsídicos helicoidais diferentes, cada um deles contendo um RNA de polaridade negativa associado com nucleoproteína (NP) e transcriptase (componentes da RNA polimerase: PB1, PB2, PA) (Tabela 49-1). O vírus influenza C tem apenas sete segmentos genômicos.

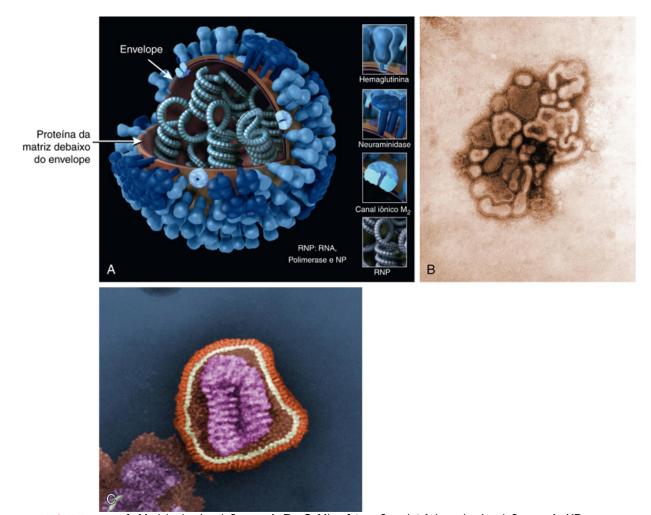


FIGURA 49-1 A, Modelo do vírus influenza A. B e C, Microfotografias eletrônicas do vírus influenza A. NP, Nucleoproteína; RNA, ácido ribonucleico; RNP, complexo ribonucleoproteíco. (Cortesia de Centers for Disease Control and Prevention.)



Quadro 49-1 Características Específicas dos Vírus Influenza A e B

- O vírion envelopado possui um genoma de oito segmentos de nucleocapsídeo RNA de polaridade negativa.
- A glicoproteína **hemaglutinina** é a proteína de ligação (adsorção) e de fusão viral; ela evoca respostas protetoras de anticorpos neutralizantes.
- O influenza transcreve e replica o seu genoma no núcleo da célula-alvo, mas é montado e brota da membrana plasmática.
- As drogas antivirais **amantadina** e **rimantadina** têm como alvo a proteína M_2 (membrana) para *influenza A, apenas* para inibir uma etapa de perda do revestimento.
- As drogas antivirais **zanamivir e oseltamivir** inibem a proteína NA do influenza A e B.
- O genoma segmentado promove a **diversidade genética** provocada por **mutação** e **rearranjo** dos segmentos infectantes com duas cepas diferentes.
- O influenza A infecta seres humanos, mamíferos e aves (zoonose).



Tabela 49-1

Produtos dos Segmentos Gênicos da Influenza

Segmento*	Proteína	Função
1	PB2	Componente da polimerase
2	PB1	Componente da polimerase
3	PA	Componente da polimerase
4	НА	Hemaglutinina, proteína de ligação (adsorção) viral, proteína de fusão, alvo do anticorpo neutralizante
5	NP	Proteína do nucleocapsídeo
6	NA	Neuraminidase (cliva o ácido siálico e promove a liberação viral)
7 [†]	M ₁	Proteína da matriz: proteína estrutural viral (interage com o nucleocapsídeo e com o envelope, promove a montagem)
	M ₂	Proteína de membrana (forma o canal da membrana e é o alvo da amantadina, facilita a perda do revestimento e a produção de HA)
8 [†]	NS ₁	Proteína não estrutural (inibe a tradução de RNAm celular)
	NS ₂	Proteína não estrutural (promove a exportação do nucleocapsídeo do núcleo)

^{*} Listado em ordem decrescente de tamanho.

Os segmentos genômicos no vírus influenza A variam de 890 a 2.340 bases. Todas as proteínas são codificadas em segmentos separados, com exceção das proteínas não estruturais (NS_1 e NS_2) e as proteínas M_1 e M_2 , em que cada par é transcrito a partir de um segmento.

A glicoproteína **HA** forma um trímero com aspecto de tridente; cada unidade é ativada por uma protease e clivada em duas subunidades mantidas juntas por uma ponte dissulfeto (Cap. 36, Fig. 36-7). A HA possui diversas funções. É a proteína de adsorção viral, que se liga ao ácido siálico nos receptores de superfície das células epiteliais; promove a fusão do envelope à membrana celular em pH ácido; hemaglutina (liga e agrega) hemácias humanas, de galinha e de cobaia (porquinho-da-índia); e evoca a resposta protetora de anticorpos neutralizantes. Mudanças na HA sofrem alterações pequenas ("deslocamento") e grandes ("alterações") na especificidade do receptor e da antigenicidade. *Os rearranjos só ocorrem com o vírus influenza A e as diferentes HA são designadas H1, H2... H16.*

A glicoproteína **NA** forma um tetrâmero e possui atividade enzimática. A NA cliva o ácido siálico em glicoproteínas, incluindo o receptor celular. A clivagem do ácido siálico em HA do vírion impede o agrupamento e facilita a liberação do vírus pelas células infectadas, tornando a NA um alvo para dois fármacos antivirais, o **zanamivir (Relenza®)** e o **oseltamivir (Tamiflu®)**. A NA do vírus influenza A também sofre rearranjo antigênico e as diferentes NA são designadas N1, N2... N9

As proteínas M_1 , M_2 e NP são tipo-específicas e usadas para diferenciar os vírus influenza A, B e C. As proteínas M_1 revestem o interior do vírion e promovem a montagem. A proteína M_2 forma um canal de próton na membrana e promove a perda dos revestimentos e a liberação viral. A M_2 do influenza A é o alvo das drogas antivirais amantadina e rimantadina.

A replicação viral inicia-se com a ligação da HA ao ácido siálico das glicoproteínas da superfície celular (Fig. 49-2). As diferentes HA (HA₁₋₁₆) se ligam a diferentes estruturas de ácido siálico, o qual determina as espécies e tecidos que podem

[†] Codificam dois RNAs mensageiros.

ser infectados. O vírus é, então, internalizado dentro de uma vesícula revestida e transferido para um endossomo. A acidificação do endossomo faz com que a HA se dobre e exponha as regiões hidrofóbicas promotoras de fusão da proteína. O envelope viral se fusiona com a membrana do endossomo. O canal de prótons formado pela proteína M_2 promove a acidificação dos conteúdos do envelope, quebrando a interação entre a proteína M_1 e a NP, e permitindo a perda dos revestimentos e a liberação do nucleocapsídeo no citoplasma.

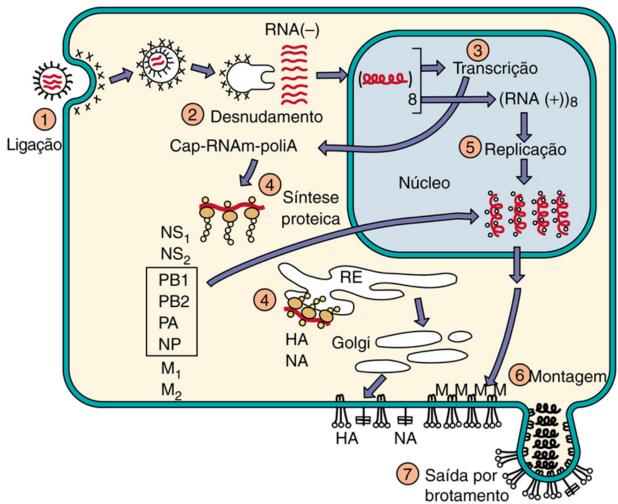


FIGURA 49-2 Replicação do vírus influenza A. Após a ligação (1) aos receptores contendo ácido siálico, o influenza é endocitosado e se fusiona (2) com a membrana da vesícula. Ao contrário da maioria dos outros vírus de ácido ribonucleico (*RNA*), a transcrição (3) e a replicação (5) do genoma ocorrem no núcleo. As proteínas virais são sintetizadas (4), fragmentos helicoidais de nucleocapsídeos RNP se formam e se associam (6) com as membranas revestidas de proteína M₁contendo M₂ e as glicoproteínas hemaglutinina (*HA*) e neuraminidase (*NA*). O vírus brota (7) da membrana plasmática e, finalmente, mata a célula. (–), Polaridade negativa; (+) polaridade positiva; *RE*, retículo endoplasmático; *NP*, nucleocapsídeo; *NS*₁, *NS*₂, proteínas não estruturais 1 e 2; *PA*, *PB1* e *PB2*, componentes da polimerase; *poliA*, poliadenilato.

Ao contrário da maioria dos vírus RNA, o nucleocapsídeo do influenza se desloca para o núcleo no qual é transcrito em RNA mensageiro (RNAm). A transcriptase (PA, PB1 e PB2) utiliza o RNAm da célula hospedeira como *primer* (iniciador) para a síntese de RNAm viral. Fazendo isso, ela se apodera da região *cap* metilada do RNA, a sequência necessária para uma ligação eficiente com os ribossomos. Todos os segmentos genômicos são transcritos em RNAm 5′-*cap*, 3′-poliadenilado (poliA) para proteínas individuais, exceto os segmentos para as proteínas M₁, M₂ e NS₁, NS₂, que são, cada um, diferenciadamente processados (sofrem *splicing*, utilizando enzimas celulares) para produzir dois RNAms diferentes. Os RNAms são traduzidos em proteínas no citoplasma. As glicoproteínas HA e NA são processadas pelo retículo endoplasmático e pelo aparelho de Golgi. A proteína M₂ se insere nas membranas celulares. O seu canal de prótons impede a acidificação do Golgi ou de outras vesículas, prevenindo o dobramento induzido pela acidificação e a inativação da HA no interior da célula. A HA e a NA são, então, transportadas para a superfície celular.

Moldes de RNA de polaridade positiva são produzidos para cada segmento, e o genoma de RNA de polaridade negativa é replicado no núcleo. Os segmentos genômicos se associam com a polimerase e com as proteínas NP para formar os nucleocapsídeos, e a proteína NS_2 facilita o transporte dos ribonucleocapsídeos para o citoplasma, onde interagem com secções da membrana plasmática que estão revestidas pela proteína M_1 e que contêm M_2 , HA e NA. Os vírus brotam seletivamente da superfície apical da célula (região luminal das vias aéreas), em razão da inserção preferencial da HA nessa membrana. O vírus é liberado em torno de oito horas após a infecção.

Patogênese e Imunidade

O vírus influenza inicialmente estabelece infecção local do trato respiratório superior (Fig. 49-3; Quadro 49-2). Para tanto, o vírus tem como alvo primário a infecção das células secretoras de muco, das células ciliadas e de outras células epiteliais, provocando a perda desse sistema de defesa primário. Perante a falta de epitélio ciliado, as bactérias orais e nasais, que são engolidas (p. ex., *Staphylococcus aureus*), não podem ser expelidas, potencialmente causando pneumonia. A NA facilita o desenvolvimento da infecção por meio da clivagem dos resíduos do ácido siálico (ácido neuramínico) do muco, proporcionando acesso ao tecido. A liberação preferencial do vírus na superfície apical das células epiteliais e no pulmão promove a disseminação célula a célula e a transmissão a outros hospedeiros. No trato respiratório inferior, a infecção pode provocar grave descamação do epitélio brônquico ou alveolar até uma camada basal de uma única célula ou até a membrana basal.

Resultado:

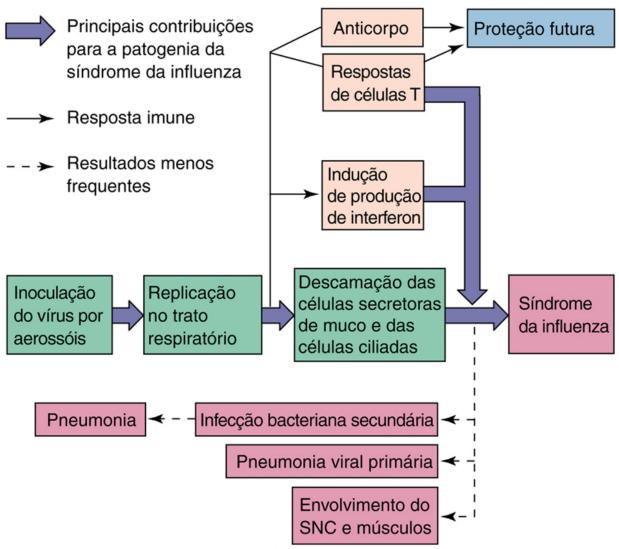


FIGURA 49-3 Patogênese do vírus influenza A. Os sintomas da gripe são causados pelos efeitos patológicos e imunopatológicos virais, mas a infecção pode promover infecção bacteriana secundária. *SNC*, Sistema nervoso central.



Quadro 49-2 Mecanismos Patológicos dos Vírus Influenza A e B

Os vírus infectam o trato respiratório superior e inferior.

Os sintomas sistêmicos são provocados pela resposta imunológica ao vírus por meio do interferon e das citocinas. Os sintomas locais resultam da lesão das células epiteliais, incluindo as células ciliadas e as células mucossecretoras.

O interferon e as respostas imunomediadas por células (células *natural killer* e T) são importantes para a resolução imune e para a imunopatogênese.

As pessoas infectadas estão predispostas à superinfecção bacteriana em consequência da perda das barreiras naturais e da exposição dos pontos de ligação nas células epiteliais.

O anticorpo é importante para a futura proteção contra infecção e é específico para epítopos definidos nas proteínas HA e NA.

A HA e a NA do vírus influenza A podem sofrer alterações antigênicas **maiores (rearranjo: substituição ou** *shift***)** e **menores (mutação: deriva genética ou** *drift***)**, garantindo cepas novas e uma parcela de pessoas da população sem exposição prévia e, portanto, suscetível.

O vírus influenza B só sofre alterações antigênicas menores.

Além de comprometer as defesas mucociliares do trato respiratório, a infecção pelo vírus influenza promove a adesão bacteriana às células epiteliais. A pneumonia pode resultar de patogênese viral ou infecção bacteriana secundária. O vírus influenza também pode provocar viremia transitória ou de baixa intensidade, mas raramente envolve outros tecidos que não o pulmão.

A infecção pelo vírus influenza é um excelente indutor do interferon. As respostas sistêmicas do interferon e das citocinas atingem um pico em 3-4 dias após a infecção, quase ao mesmo tempo que o vírus em lavagens nasais, e são responsáveis pelos sintomas sistêmicos "semelhantes à gripe". As respostas das células T são importantes para recuperação efetiva e para a imunopatogênese, porém anticorpos, incluindo os induzidos por vacina, podem prevenir a doença. Assim como para o sarampo, a infecção pela influenza deprime a função dos macrófagos e das células T, dificultando a resolução imunológica. É importante notar que a recuperação, com frequência, precede a detecção dos anticorpos no soro ou nas secreções.

A proteção contra a reinfecção está primariamente associada com desenvolvimento de anticorpos para a HA, mas anticorpos para a NA também são protetores. A resposta dos anticorpos é específica para cada cepa de influenza, enquanto que a resposta imune mediada por células é mais geral, sendo capaz de reagir às cepas de influenza do mesmo tipo (vírus da influenza A e B). Os alvos antigênicos para as respostas das células T incluem peptídeos da HA, mas também as proteínas do nucleocapsídeo (NP, PB2) e proteína M₁. As proteínas NP, PB2 e M₁ diferem consideravelmente entre os vírus influenza A e B, mas minimamente entre as cepas desses vírus; por conseguinte, a memória das células T pode fornecer proteção futura contra a infecção por uma estirpe diferente da estirpe imunizante.

Os sintomas e o curso temporal da doença são determinados pela extensão da destruição viral e imunológica causada no tecido epitelial e pela atividade das citocinas. A gripe costuma ser uma doença autolimitada que raramente envolve órgãos outros que não os pulmões. O início agudo de *muitos dos sintomas clássicos da "gripe" (p. ex., febre, mal-estar, cefaleia e mialgia) é associado com a produção de interferon e citocinas*. A produção de vírus pode ser controlada dentro de 4-6 dias após a infecção, mas as lesões nos tecidos, devido às respostas inflamatórias inatas e imunitárias, continuam. A reparação dos tecidos comprometidos é iniciada em 3-5 dias após o início dos sintomas, mas pode levar até um mês ou mais, especialmente em idosos. O curso temporal da infecção pelo vírus influenza está ilustrado na Figura 49-4.

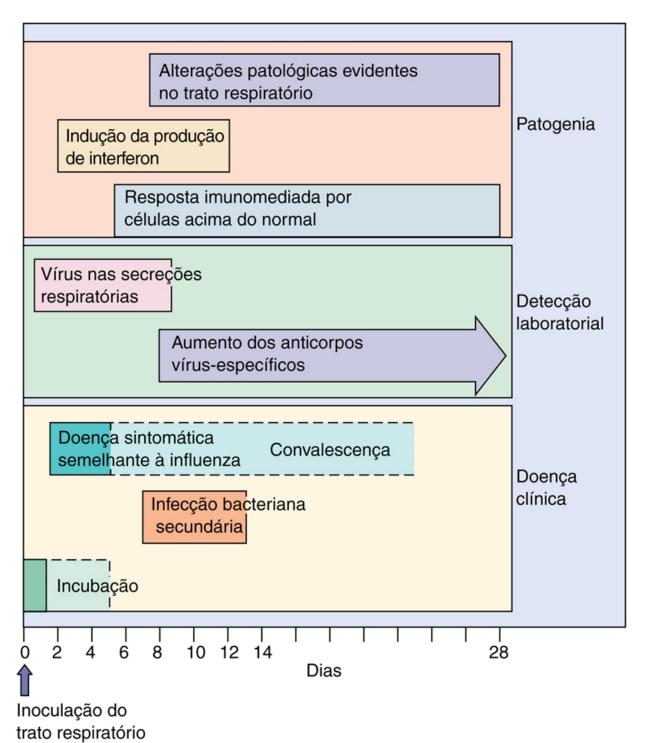


FIGURA 49-4 Evolução temporal da infecção pelo vírus influenza A. A clássica "síndrome da gripe" ocorre primeiro. Posteriormente, a pneumonia pode resultar de patogênese bacteriana, patogênese viral ou imunopatogênese.

Epidemiologia

As cepas do vírus influenza A são classificadas segundo as seguintes características:

- 1. Tipo (A)
- 2. Local de isolamento original
- 3. Data do isolamento original
- 4. Tipo HA e NA

Por exemplo, uma cepa atual de vírus influenza pode ser designada A/Bangkok/1/79 (H3N2). Isso significa que esse é um vírus influenza A que foi primeiramente isolado em Bangkok em janeiro de 1979 e contém os antígenos HA (H3) e NA (N2).

Cepas de influenza B são designadas por (1) tipo, (2) geografia e (3) data de isolamento (p. ex., B/Cingapura/3/64), mas sem a menção específica aos antígenos HA e NA, porque o vírus influenza B não sofre *shift* (rearranjo) antigênico ou pandemias como o influenza A.

As alterações antigênicas menores, resultantes da mutação dos genes HA e NA, são denominadas deriva antigênica (drift). Esse processo ocorre a cada 2-3 anos, causando surtos locais de infecção por influenza A e B. As alterações

antigênicas maiores (rearranjo ou shift antigênico) resultam do reagrupamento dos genomas entre as diferentes cepas, incluindo cepas de animais. Esse processo só ocorre com o vírus influenza A. Essas alterações frequentemente são associadas com a ocorrência de pandemias. Em contraste com o influenza A, o influenza B é predominantemente um vírus humano e não sofre shift antigênico.

Os rearranjos são eventos raros, mas as pandemias que eles causam podem ser devastadoras (Tabela 49-2). Por exemplo, o vírus influenza A prevalente em 1947 era o subtipo H1N1. Em 1957, houve rearranjo em ambos os antígenos, resultando no subtipo H2N2. O H3N2 surgiu em 1968, e o H1N1 reapareceu em 1977. O ressurgimento do H1N1 pôs a população com menos de 30 anos em risco para a doença. Exposição anterior e resposta imunológica humoral (anamnéstica) protegeram os membros da população com mais de 30 anos.



Tabela 49-2

Pandemias de Gripe Resultantes de Rearranjo Antigênico

Ano da Pandemia	Subtipo de Influenza A
1918	H1N1
1947	H1N1
1957	H2N2; cepa de gripe asiática
1968	H3N2; cepa de gripe de Hong Kong
1977	H1N1; cepa de gripe russa
1997, 2003	H5N1; China, aviária
2009	H1N1, gripe suína

A diversidade genética do vírus influenza A é fomentada pela sua estrutura genômica segmentada e pela sua capacidade de infectar e se replicar em seres humanos e em muitas espécies animais (zoonose), incluindo aves e porcos. Os vírus híbridos são criados pela coinfecção de uma célula por diferentes cepas de vírus influenza A, permitindo que segmentos genômicos se associem aleatoriamente a novos vírions. Permuta nas glicoproteínas HA pode gerar um novo vírus que pode infectar uma população humana sem imunidade por exposição prévia. A Figura 49-5 mostra a origem do vírus pandêmico A/California/04/2009/H1N1 que, por meio de múltiplos rearranjos entre segmentos de vírus humanos, aviários e suínos, tornou-se capaz de infectar humanos (Caso Clínico 49-1).

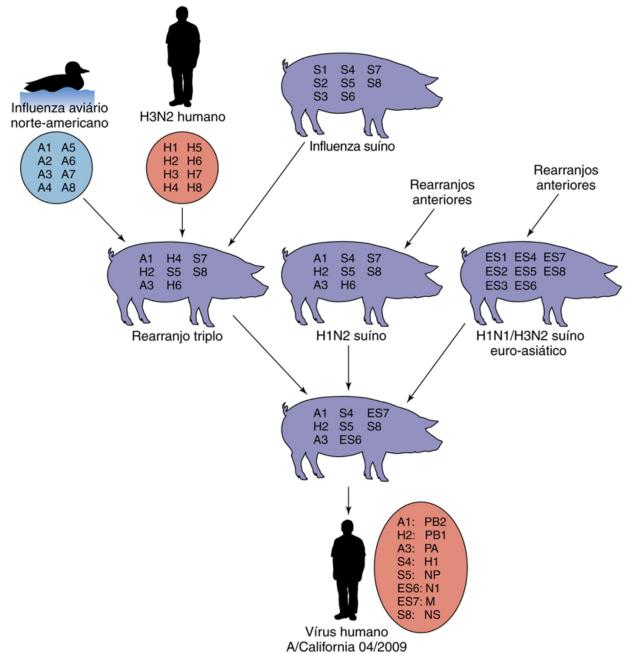


FIGURA 49-5 Geração do vírus pandêmico da gripe suína A/CALIFORNIA/04/2009 (H1N1) por recombinação de fragmentos genômicos do vírus influenza A. O vírus pandêmico H1N1 surgiu da mistura de um rearranjo triplo de vírus de aves, humanos e suínos com outros dois vírus suínos, e cada qual foi também gerado por rearranjo entre vírus suínos, humanos e outros vírus influenza. Esse vírus novo emergiu durante a primavera de 2009 (portanto, fora da estação) no México, mas foi primeiramente identificado na Califórnia.



Caso Clínico 49-1 Pandemia por Influenza A/California/04/2009 (H1N1)

Na primavera de 2009, um novo vírus H1N1 recombinante, resistente à amantadina e à rimantadina, foi detectado em um paciente de 10 anos na Califórnia, e foi o responsável pelo início de uma pandemia. Como indicado na Figura 49-5, o vírus resultou de uma recombinação tripla-tripla de múltiplos vírus influenza de suínos, aves e humanos. O vírus originou-se no México e rapidamente se disseminou, já que muitos casos não foram reconhecidos por causa da natureza não sazonal do surto. Ocorreram até 25.000 mortes em todo o mundo, principalmente em indivíduos com idades compreendidas entre os 22 meses e 57 anos. Os indivíduos com patologias médicas crônicas, especialmente mulheres grávidas, tinham maior risco de desenvolver complicações, mas, ao contrário de outros surtos, esse vírus tinha uma tendência para afetar indivíduos mais jovens e mais saudáveis. É de salientar que muitos indivíduos com mais de 60 anos possuíam anticorpos de reação cruzada resultante da exposição prévia a um vírus influenza H1N1. Foram disponibilizados inibidores da neuraminidase para profilaxia, mas a detecção de estirpes resistentes tornou-se uma preocupação. Em setembro do mesmo ano, uma vacina foi desenvolvida, aprovada e fabricada e ficou disponível para distribuição de forma prioritária, e depois foi administrada com a vacina da gripe sazonal. Em agosto de 2010, foi declarado o fim da pandemia e o vírus H1N1 juntou-se aos vírus H3N2 e influenza B como um vírus sazonal.

Por causa da sua elevada densidade populacional e da proximidade entre pessoas, porcos, galinhas e patos, a China é frequentemente um terreno fértil para novos rearranjos virais e fonte de muitas das cepas pandêmicas de influenza. Em 1997, uma cepa do vírus influenza aviário altamente patogênica (HPAIV) (H5N1) foi isolada em pelo menos 18 pessoas e provocou seis mortes em Hong Kong (Caso Clínico 49-2). O vírus foi disseminado por aves domésticas e aves aquáticas selvagens, através das fezes e entre contado direto entre homem e ave, ocorrendo casos ao redor do mundo. Embora sendo primariamente um vírus aviário, a inalação de grandes quantidades de vírus (ambientes partilhados) pode levar à infecção e à morte de células do pulmão humano inferior. Os surtos de gripe aviária requerem a destruição de todas as aves potencialmente infectadas, como 1,6 milhão de frangos em Hong Kong, com o objetivo de destruir a fonte potencial do vírus. Os surtos da doença letal por H7N9 em 2013 e 2014 na China foram associados à transmissão do vírus das galinhas para os humanos nos mercados de aves vivas.



Caso Clínico 49-2 Gripe Aviária H5N1

O primeiro caso de gripe aviária H5N1 foi descrito por Ku e Chan (J Paediatr Child Health 35:207-208, 1999). Depois de um menino chinês de 3 anos ter desenvolvido febre de 40° C e dor abdominal, foram administrados a ele antibióticos e aspirina. No terceiro dia, ele foi hospitalizado com dor de garganta e a radiografia demonstrou inflamação brônquica. Os exames de sangue comprovaram um desvio para a esquerda com 9% de bastonetes. No sexto dia, o menino ainda estava febril e plenamente consciente, mas no sétimo dia, a febre aumentou, ele estava hiperventilando e os níveis de oxigênio sanguíneo reduziram-se. A radiologia indicou pneumonia grave e o paciente foi entubado. No oitavo dia, o menino recebeu o diagnóstico de sepse fulminante e síndrome da angústia respiratória aguda (SARA). O tratamento da SARA e outras tentativas de melhorar a captação de oxigênio foram malsucedidas. Ele foi tratado empiricamente para sepse, para infecção pelo vírus do herpes simples (HSV) (aciclovir), para Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) (vancomicina) e para infecção fúngica (anfotericina B), mas sua condição se deteriorou ainda mais, com coagulação intravascular disseminada (CID) e falência hepática e renal. Ele faleceu no 11º dia. Os resultados laboratoriais indicaram anticorpos para influenza A elevados no oitavo dia, e o influenza A foi isolado de uma amostra traqueal colhida no nono dia. O isolado foi enviado para os Centers for Disease Control and Prevention nos EUA e para outros locais, onde foi classificado como vírus da gripe aviária H5N1 e nomeado A/Hong Kong/156/97 (H5N1). A criança pode ter contraído o vírus brincando com patinhos ou pintinhos em sua escola. Embora o vírus H5N1 ainda tenha dificuldade para infectar seres humanos, este caso demonstra a velocidade e a gravidade das manifestações respiratórias e sistêmicas da doença provocadas pelo influenza aviário H5N1.

A mudança da natureza antigênica do vírus influenza assegura, a cada ano, grande proporção de pessoas suscetíveis na população (especialmente crianças), sem exposição prévia (Quadro 49-3). O surto de gripe pode ser rapidamente detectado a partir do aumento de ausências às escolas e ao trabalho e pelo alto número de procura aos setores de emergência. A temporada da gripe no Hemisfério Norte ocorre, geralmente, a partir do fim do outono e até o início da primavera.



Quadro 49-3 Epidemiologia dos Vírus Influenza A e B

Doença/Fatores Virais

O vírus possui grande vírion envelopado que é facilmente inativado por ressecamento, ácidos e detergentes.

O genoma segmentado facilita grandes alterações genéticas, especialmente nas proteínas HA e NA.

O influenza A infecta muitas espécies de vertebrados, incluindo outros mamíferos e aves.

A coinfecção com cepas animais e humanas de influenza pode gerar cepas de vírus muito diferentes por meio de rearranjo genético.

A transmissão do vírus frequentemente precede os sintomas.

Transmissão

O vírus se dissemina pela inalação de pequenas gotículas de aerossol expelidas durante a fala, respiração e tosse.

O vírus gosta de atmosferas frias e pouco úmidas (p. ex., período de aquecimento no inverno).

O vírus é extensamente disseminado pelas crianças em idade escolar.

Quem Está sob Risco?

Pessoas soronegativas

Adultos: síndrome clássica da gripe

Crianças: de infecções assintomáticas até infecções graves do trato respiratório

Grupos de alto risco: pessoas idosas e imunocomprometidas, pessoas em asilos ou com problemas cardíacos ou respiratórios subjacentes (incluindo as que sofrem de asma e fumantes)

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

A ocorrência é mundial. As epidemias são locais; as pandemias são mundiais.

A doença é mais comum no inverno.

Meios de Controle

Amantadina, rimantadina, zanamivir e oseltamivir foram aprovados para profilaxia ou tratamento precoce. Vacinas mortas e vivas contêm as cepas previstas para o corrente ano dos vírus influenza A e B

A infecção pelo vírus influenza se dissemina rapidamente por meio de pequenas gotículas carregadas pelo ar e expelidas durante a conversa, respiração e tosse. A baixa umidade e as temperaturas baixas estabilizam o vírus, e a proximidade dos meses de inverno promovem a sua disseminação. O vírus também pode sobreviver nas superfícies de bancadas por até um dia.

A população infantil é a mais suscetível e as crianças em idade escolar estão mais propensas a disseminar a infecção. O contágio precede os sintomas e perdura por um longo período, especialmente nas crianças. As crianças, as pessoas imunossuprimidas (incluindo as mulheres grávidas), os idosos e as pessoas com distúrbios cardíacos ou pulmonares (incluindo os fumantes) apresentam risco mais elevado de doença grave, pneumonia ou outras complicações da infecção. Mais de 90% dos óbitos ocorre em pacientes com mais de 65 anos, mas pneumonias bacterianas letais, rapidamente progressivas, secundárias à gripe, podem ocorrer em indivíduos jovens saudáveis.

Extensa vigilância dos surtos de influenza A e B é conduzida a fim de verificar novas cepas que devem ser incorporadas em novas vacinas. A prevalência de cepas particulares de vírus influenza A ou B varia a cada ano e reflete a falta de exposição da população àquela cepa naquele momento. A vigilância também se estende às populações animais em decorrência da possível presença de cepas recombinantes de influenza A que conseguem causar pandemias humanas.

Síndromes Clínicas (Quadro 49-4)

Dependendo do grau de imunidade da cepa de vírus infectante e de outros fatores, a doença pode variar de assintomática a grave. Os pacientes com doença cardiorrespiratória subjacente, pessoas com deficiência imunológica (mesmo aquela associada a gravidez), idosos e fumantes são propensos a apresentarem um caso grave.



Quadro 49-4 Resumo Clínico

Influenza A: Uma mulher de 70 anos de idade apresentou febre de início rápido acompanhada de cefaleia, mialgia, dor de garganta e tosse não produtiva. A doença progrediu para pneumonia com envolvimento bacteriano. Não há histórico de imunização recente com a vacina para o vírus influenza A. Seu marido está sendo tratado com amantadina ou com inibidor da neuraminidase.

Após período de incubação de 1-4 dias, a "síndrome gripal" começa com curto pródromo de mal-estar e cefaleia que dura algumas horas. O pródromo é seguido pelo início agudo e intenso de febre, calafrios, mialgias graves, perda do apetite, fraqueza e fadiga, dor de garganta e, geralmente, tosse não produtiva ("tosse seca"). A febre persiste por 3-8 dias e, a menos que alguma complicação ocorra, a recuperação é completa dentro de 7-10 dias. A gripe em crianças pequenas (< 3 anos) se assemelha a outras infecções graves do trato respiratório, provocando potencialmente bronquiolite, crupe, otite média, vômitos e dor abdominal, raramente acompanhados por convulsões febris (Tabela 49-3). As complicações da gripe incluem pneumonia bacteriana, miosite e síndrome de Reye. O sistema nervoso central também pode estar envolvido. A doença pelo influenza B é semelhante àquela causada pelo influenza A.



Doenças Associadas com Infecção pelo Vírus Influenza

Distúrbio	Sintomas	
Infecção aguda pelo vírus influenza em adultos	Rápida manifestação de febre, mal-estar, mialgia, dor de garganta e tosse não reprodutiva	
Infecção aguda pelo vírus influenza em crianças	Doença aguda é semelhante à dos adultos, mas com febre mais alta, sintomas gastrointestinais (dor abdominal, vômitos), otite média, miosite e laringite mais frequente	
Complicações da infecção pelo vírus influenza	Pneumonia viral primária Pneumonia bacteriana secundária Miosite e envolvimento cardíaco Síndromes neurológicas: Síndrome de Guillian-Barré Encefalopatia Encefalite Síndrome de Reye	

A gripe pode provocar diretamente pneumonia, mas ela mais comumente promove superinfecção bacteriana secundária que acarreta bronquite ou uma pneumonia rapidamente progressiva e potencialmente letal. A lesão tecidual provocada por infecção progressiva dos alvéolos pelo vírus influenza pode ser extensa, resultando em hipóxia e pneumonia bilateral. A infecção bacteriana secundária geralmente envolve *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ou *S. aureus*. Nessas infecções, normalmente é produzido catarro, que se torna purulento.

A doença por influenza pode afetar outros locais em algumas pessoas. Por exemplo, miosite (inflamação do músculo)pode ocorrer em crianças. Encefalopatia, apesar de rara, pode acompanhar enfermidade aguda pelo influenza, podendo ser fatal. A encefalite pós-influenza acontece entre 2-3 semanas após a recuperação da gripe. Acredita-se que essas doenças sejam manifestações autoimunes desencadeadas pelo influenza.

A síndrome de Reye é uma encefalite aguda que afeta as crianças e se dá após diversidade de infecções virais febris agudas, incluindo varicela e influenza A e B. As crianças que recebem salicilatos (aspirina) apresentam maior risco para essa síndrome. Além da encefalopatia, há disfunção hepática. A taxa de mortalidade pode ser de até 40%.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de influenza normalmente se baseia nos sintomas característicos, na estação do ano e na presença do vírus na comunidade. Os métodos laboratoriais que diferenciam o influenza de outros vírus respiratórios e identificam o seu tipo e cepa confirmam o diagnóstico (Tabela 49-4).



Tabela 49-4

Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo Vírus Influenza

Teste	Detecta
Cultura celular em células primárias de rim de macaco ou da linhagem MDCK (Madin-Darby canine kidney)	Presença do vírus; detecção limitada à visualização dos efeitos citopatológicos
Hemadsorção de células infectadas	Presença da proteína HA na superfície celular
Hemaglutinação	Presença do vírus em secreções
Inibição da hemaglutinação	Tipo e cepa de vírus influenza ou especificidade do anticorpo
Inibição da hemadsorção por anticorpos	Identificação do tipo e da cepa do vírus influenza
Imunofluorescência, ELISA	Antígenos e vírus influenza nas secreções respiratórias ou em cultura de tecidos
Sorologia: inibição da hemaglutinação, inibição da hemadsorção, ELISA, imunofluorescência, fixação do complemento	Soroepidemiologia
Genômica: RT-PCR	Identificação do tipo e da cepa do vírus influenza

ELISA, ensaio imunoabsorvente ligado a enzima; RT-PCR, reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa.

Os vírus influenza são obtidos a partir das secreções respiratórias coletadas no início da enfermidade. O vírus pode ser geralmente isolado nas culturas primárias de células de rim de macaco ou da linhagem celular MDCK (Madin-Darby canine

kidney). Embora citolíticos, os efeitos citopatológicos do vírus quase sempre são difíceis de distinguir, mas podem ser observados dentro de até dois dias (média de quatro dias). Antes que os efeitos citopatológicos se desenvolvam, a adição de eritrócitos de cobaia pode revelar **hemadsorção** (a aderência desses eritrócitos às células infectadas que expressam HA) (Cap. 39, Fig. 39-5). A adição de fluidos contendo vírus influenza aos eritrócitos promove a formação de um agregado semelhante a gel resultante da **hemaglutinação**. A hemaglutinação e a hemadsorção não são específicas para os vírus influenza; o parainfluenza e outros vírus também exibem essas propriedades.

Técnicas mais rápidas detectam e identificam o genoma do influenza ou os antígenos do vírus. Os ensaios rápidos para antígenos (< 30 minutos) podem detectar e distinguir o influenza A do influenza B. A reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR) e os ensaios de RT-PCR multiplex podem detectar e distinguir vírus influenza A e B, diferentes estirpes (p. ex., H5N1) e outros vírus respiratórios. O imunoensaio enzimático ou a imunofluorescência podem ser usados para detectar antígenos virais nas células esfoliadas, nas secreções respiratórias ou na cultura de células. A imunofluorescência ou a inibição da hemadsorção ou da hemaglutinação (inibição da hemaglutinação) com anticorpos específicos (Cap. 39, Fig. 39-6) também podem detectar e distinguir diferentes cepas de influenza.

Tratamento, Prevenção e Controle

Centenas de milhões de dólares são gastos com paracetamol, anti-histamínicos e medicamentos semelhantes para aliviar os sintomas da gripe. A droga antiviral **amantadina** e o seu análogo **rimantadina** inibem a etapa de perda do revestimento do vírus influenza A, mas não afetam os vírus influenza B e C. O alvo para suas ações é a proteína M₂. O **zanamivir** e o **oseltamivir** são inibidores da enzima neuraminidase, atuando tanto contra o influenza A quanto contra o B. Sem a neuraminidase, a hemaglutinina do vírus se liga ao ácido siálico em outras glicoproteínas e partículas virais e formam aglomerados, impedindo a liberação do vírus. O zanamivir é inalado, enquanto o oseltamivir é ingerido por via oral como um comprimido. Esses medicamentos são eficazes para profilaxia e tratamento durante as primeiras 24-48 horas após o início da doença pelo influenza A. O tratamento não pode impedir os estágios imunopatogênicos posteriores da doença induzidos pelo hospedeiro. Cepas mutantes ou naturalmente resistentes são selecionadas quando o tratamento profilático antiviral é realizado, e seu uso está tornando-se mais prevalentes. Foram desenvolvidas reservas de oseltamivir em muitos países como resposta rápida a um surto e constituem uma alternativa às vacinas.

É quase impossível limitar a disseminação aérea da gripe. O melhor modo de controlar o vírus é por meio da imunização. A imunização natural, que resulta de exposição anterior, é protetora por longos períodos. As vacinas representando as "cepas do ano" e a profilaxia com drogas antivirais podem prevenir a infecção.

As vacinas inativadas de subunidades de influenza são uma mistura de extratos ou proteínas purificadas de HA e NA, a partir de três ou quatro estirpes de vírus diferentes. HA e NA são purificadas de vírus crescido em ovos embrionados, a partir de células de cultura de tecidos infectados ou por tecnologia genética recombinante. Também são utilizadas preparações de vírions mortos (inativados com formalina). Idealmente, a vacina incorpora antígenos das estirpes influenza A e B, que serão prevalentes na comunidade durante o próximo inverno. Por exemplo, a vacina trivalente para influenza para o hemisfério norte, para a temporada 2013-2014, incluía um vírus semelhante ao A/California/7/2009 (H1N1), um vírus semelhante ao A/Victoria/361/2011 (H3N2) e um vírus semelhante ao B/Massachusetts/2/2012. A vacinação é recomendada por rotina para todos os indivíduos e, especialmente, para pessoas com mais de 50 anos, trabalhadores de saúde, mulheres grávidas que vão estar no seu segundo ou terceiro trimestre de gestação durante a temporada da gripe, pessoas que vivem em lar de idosos, pessoas com doença cardíaca pulmonar crônica e outros indivíduos de elevado risco. A partir de 2008, todas as crianças com idade entre 5-18 anos também devem ser vacinadas. Indivíduos com alergias graves a ovos podem ser submetidos à vacinação com vacinas recombinantes ou vacinas obtidas por cultura de tecidos ou com a vacina viva.

Uma vacina viva atenuada para o influenza (LAIV) também está disponível para administração como um *spray* nasal em vez de uma "injeção para gripe". A vacina trivalente contém material genético de vários vírus (*reassortment*) com os segmentos dos genes HA e NA das estirpes de influenza desejadas, dentro de um vírus doador principal que é adaptado ao frio, para um crescimento ótimo a 25° C. Essa vacina é restrita a infectar a nasofaringe e induzirá uma proteção mais natural, incluindo a proteção mediada por células, por anticorpos séricos e por anticorpos de imunoglobulina (Ig)A secretórios da mucosa. A vacina só é recomendada para indivíduos com idades compreendidas entre os 2 e os 50 anos.

Togotovírus

Os togotovírus possuem seis ou sete segmentos genômicos e são arbovírus capazes de infectar os seres humanos e outros vertebrados. São disseminados primariamente por carrapatos, mas possivelmente também por mosquitos. Em 2014, um homem previamente saudável morreu de uma doença transmitida por carrapato, que se assemelhava à febre maculosa das Montanhas Rochosas (em inglês, *Rocky Mountain spotted fever*). Chama-se vírus Bourbon, assim denominado de acordo com o local onde foi isolado (Bourbon, Kansas).

Referências Bibliográficas

Cann AJ. Principles of molecular virology. San Diego: Academic; 2005.

Carr CM, Chaudhry C, Kim PS. Influenza hemagglutinin is spring-loaded by a metastable native conformation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:14306–14313.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 4 Oxford: Oxford University Press; 2011.

Cox NJ, Subbarao K. Global epidemiology of influenza: past and present. Annu Rev Med. 2000;51:407-421.

Das K, Aramini JM, Ma LC, et al. Structures of influenza A proteins and insights into antiviral drug targets. *Nat Struct Mol Biol.* 2010;17:530–538.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Laver WG, Bischofberger N, Webster RG. The origin and control of pandemic influenza. Perspect Biol Med. 2000;43:173–192.

Poland GA, Jacobson RM, Targonski PV. Avian and pandemic influenza: an overview. Vaccine. 2007;25:3057–3061.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Salomon R, Webster RG. The influenza virus enigma. Cell. 2009;136:402-410.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

Webster RG, Govorkova EA. H5N1 Influenza, continuing evolution and spread. N Engl J Med. 2006;355:2174–2177.

Websites

Centers for Disease Control and Prevention: Bourbon virus. www.cdc.gov/ncezid/dvbd/bourbon/. Acessado em 10 de maio de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: The 2009 H1N1 pandemic: summary highlights, April 2009-2010, 2010. www.cdc.gov/h1n1flu/cdcresponse.htm. Acessado em 4 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Seasonal influenza (flu). www.cdc.gov/flu/. Acessado em 4 de abril de 2015.

Derlet RW, Nguyen HH, Sandrock CE: Influenza, 2012. http://emedicine.medscape.com/article/219557-overview. Acessado em 4 de abril de 2015.

International Federation of Pharmaceutical Manufacturers and Associations: IFPMA influenza vaccine supply international task force. www.ifpma.org/resources/influenza-vaccines/ifpma-influenza-task-force/about-the-influenza-task-force/article/about-the-influenza-task-force.html. Acessado em 4 de abril de 2015.

National Institute of Allergy and Infectious Disease: Flu (influenza). www.niaid.nih.gov/topics/flu/Pages/default.aspx. Acessado em 11 de maio de 2015.

Webster RG: Influenza: an emerging disease, 1998. wwwnc.cdc.gov/eid/article/4/3/98-0325_article.htm. Acessado em 4 de abril de 2015.

^{*} Adaptado dos Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Novel influenza A (H1N1) virus infections in three pregnant women—United States, April—May 2009, MMWR Morb Mortal Wkly Rep 58:497–500. www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm58d0512a1.htm.

Rabdovírus, Filovírus e Bornavírus

Uma menina de 15 anos segurou um morcego e foi mordida na mão. Um mês depois, ela desenvolveu visão dupla, náuseas e vômitos. Nos quatro dias seguintes apresentou doença neurológica e teve febre de 38,9° C. A suspeita diagnóstica de raiva foi confirmada com a detecção de anticorpos específicos para raiva no soro e no líquido cefalorraquidiano (título de 1:32) da paciente. Ela evoluiu para coma induzido e ventilação mecânica, sendo tratada com ribavirina intravenosa por 7 dias, quando os títulos de anticorpos no LCR atingiram 1:2.048. Após 3 meses, ela estava apta a andar com apoio, exercitar-se na bicicleta estacionária durante oito minutos, alimentar-se sozinha com dieta sólida leve, resolver problemas simples de matemática, usar linguagem por símbolos e estava em treinamento para readquirir a habilidade de falar. Este é o único exemplo de um paciente que sobreviveu sem imunização adequada pós-exposição contra raiva.*

- 1. Como a infecção por raiva é confirmada?
- 2. Como é a progressão da doença após a mordida de um animal com raiva?
- 3. Quando o anticorpo antirraiva é detectado na apresentação normal da doença?
- 4. Qual é a imunização pós-exposição à raiva, e por que ela funciona?
- 5. Como a ribavirina inibe a replicação da raiva e outras viroses?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Rabdovírus

Palavras-gatilho

Cachorro louco, hidrofobia, salivação, vírion em forma de bala, corpúsculos de Negri

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho médio, forma de bala, com envelope, genoma de RNA(-)
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replicando-se no citoplasma
- Os anticorpos podem bloquear a doença
- O vírus dissemina-se ao longo dos neurônios até às glândulas salivares e o cérebro
- Os anticorpos são produzidos após o vírus atingir o cérebro
- O período de incubação depende da proximidade do local da mordedura ao SNC e da dose infecciosa

Epidemiologia

- Zoonose
- Reservatório viral nos gambás, guaxinins, raposas, texugos, morcegos (aerossóis)

Diagnóstico

• RT-PCR, detecção de antígenos na biópsia, presença de corpúsculos de Negri nas células infectadas

Tratamento, Prevenção e Controle

- Imunização com vacina morta APÓS a ocorrência da mordedura e imunoglobulina antirraiva
- Profilaxia em caso de risco relacionado a exposição profissional
- Vacina inativada para os animais domésticos
- Vacina híbrida do vírus da vaccinia para animais selvagens

Rabdovírus

Os membros da família Rhabdoviridae (da palavra grega **rhabdos**, que significa "bastão") incluem patógenos para uma variedade de mamíferos, peixes, aves e plantas. A família contém *Vesiculovirus* (vírus da estomatite vesicular

[VSVs]); *Lyssavirus* (do grego "delírio") (vírus da raiva e semelhantes ao da raiva), um gênero sem denominação que constitui o grupo dos rabdovírus de plantas; e outros rabdovírus não agrupados de mamíferos, aves, peixes e artrópodes.

O vírus da raiva é o patógeno mais importante dos rabdovírus. Até que Louis Pasteur desenvolvesse a vacina inativada contra o vírus rábico, a mordida de um cachorro "louco" sempre resultava em sintomas característicos da **hidrofobia** e morte certa.

Fisiologia, Estrutura e Replicação

Os rabdovírus são vírus simples que codificam apenas cinco proteínas e aparecem como **vírions envelopados em formato de bala**, com diâmetro de 50 a 95 nm e comprimento de 130 a 380 nm (Fig. 50-1; Quadro 50-1). Espículas compostas de um trímero da glicoproteína (G) cobrem a superfície do vírus. A proteína de ligação viral, proteína G, induz anticorpos neutralizantes. A proteína G do vírus da estomatite vesicular é uma glicoproteína simples com glicano *N*-ligado. Essa proteína G foi usada como protótipo para estudar o processamento de glicoproteínas em células eucarióticas.

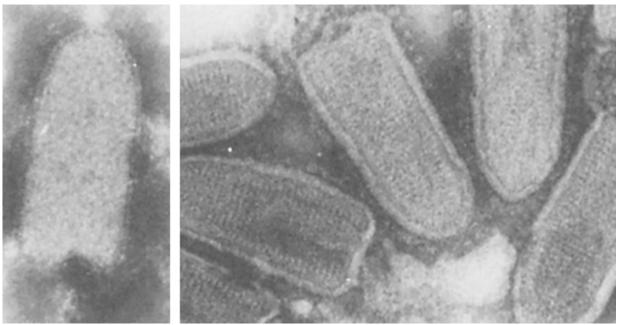


FIGURA 50-1 Família Rhabdoviridae observada por microscopia eletrônica: vírus da raiva (à esquerda) e vírus da estomatite vesicular (à direita). (De Fields BN: Virology, New York, 1985, Raven.)



Quadro 50-1 Características Específicas dos Rabdovírus

Vírus em forma de projétil, envelopado, constituído de RNA de sentido negativo e fita simples, que codifica cinco proteínas

Protótipo da replicação dos vírus envelopados de RNA de fita simples negativo Replicação no citoplasma

Dentro do envelope, o **nucleocapsídeo helicoidal** está enrolado simetricamente numa estrutura cilíndrica, conferindo-lhe aparência de estrias (Fig. 50-1). O nucleocapsídeo é composto de molécula de RNA (ácido ribonucleico) de fita simples e sentido negativo, com aproximadamente 12.000 bases e proteínas denominadas nucleoproteína (N), grande (L) e não estrutural (NS). As proteínas L e NS constituem a RNA polimerase RNA--dependente. A proteína N é a principal proteína estrutural do vírus. Ela protege o RNA da digestão por ribonucleases e mantém o RNA em configuração apropriada para transcrição. A proteína da matriz (M) localiza-se entre o envelope e a nucleocapsídeo. O ciclo replicativo do VSV é o protótipo para os rabdovírus e outros vírus de RNA de fita simples e sentido negativo (Cap. 36, Fig. 36-13). A proteína G viral se fixa à célula hospedeira e os vírions são internalizados por endocitose. O vírus da raiva se liga tanto ao receptor nicotínico de acetilcolina (AChR), como à molécula de adesão da célula neural (NCAM) ou a outras moléculas. O envelope viral então se funde à membrana do endossomo com a acidificação da vesícula. Essa desencapsidação permite que o nucleocapsídeo seja liberado para dentro do citoplasma, no qual tem lugar a replicação. Vesículas endossômicas podem liberar vírions inteiros da raiva junto aos axônios do corpo das células neurais, nas quais sua replicação ocorre.

A RNA polimerase RNA-dependente, associada com nucleocapsídeo, transcreve o RNA genômico viral, produzindo cinco RNAs mensageiros (RNAms) individuais. Para o vírus da raiva esse processo ocorre dentro dos corpúsculos de Negri. Esses RNAms são então traduzidos para gerar as cinco proteínas virais. O RNA genômico viral também é transcrito para um molde de RNA de sentido positivo e de comprimento completo, que é usado para gerar novos genomas. A proteína G é

sintetizada por ribossomos ligados à membrana, processada pelo aparelho de Golgi e encaminhada à superfície celular em vesículas de membrana. A proteína M se associa com membranas modificadas pela proteína G.

A montagem do vírion ocorre em duas fases: (1) montagem do nucleocapsídeo no citoplasma; e (2) envelopamento e liberação na membrana plasmática celular. O genoma se associa com proteína N e, a seguir, com polimerases (proteínas L e NS) para formar o nucleocapsídeo. A associação do nucleocapsídeo com proteína M na membrana plasmática induz o enrolamento do vírion para forma condensada e característica em formato de bala. O vírus então brota através da membrana plasmática e é liberado quando o nucleocapsídeo inteiro está envelopado. Morte e lise celular acontecem após a infecção. O tempo para cada ciclo de replicação depende do tipo de célula e do volume do inóculo.

Patogênese e Imunidade

A infecção da raiva geralmente resulta da mordida de um animal raivoso (Quadro 50-2). A infecção rábica no animal causa secreção do vírus em sua saliva e promove comportamento agressivo (cachorro "louco"), que, por sua vez, promove a transmissão do vírus. O vírus também pode ser transmitido por meio da inalação de vírus aerossolisado (encontrado em cavernas de morcegos), em transplante de tecido infectado (p. ex., córnea) e pela inoculação através de membranas mucosas intactas.



Quadro 50-2 Mecanismos da Doença Causada pelo Vírus da Raiva

A raiva é geralmente transmitida na saliva e é adquirida pela mordida de um animal raivoso.

O vírus da raiva **não é muito citolítico** e parece se manter associado à célula.

O vírus se replica no músculo no local da mordida, com sintomas mínimos ou mesmo sem sintomas (fase de incubação).

A duração da fase de incubação é determinada pela dose infectante e pela proximidade do local de infecção ao sistema nervoso central (SNC) e cérebro.

Depois de semanas a meses, o vírus infecta os nervos periféricos e sobe pelo SNC até o cérebro (fase prodrômica).

A infecção do cérebro causa sintomas clássicos, coma e morte (fase neurológica).

Durante a fase neurológica, o vírus se dissemina pelas glândulas, pele e outras partes do corpo, inclusive as glândulas salivares, de onde é transmitido.

A infecção pela raiva não induz uma resposta de anticorpos até as fases tardias da doença, quando o vírus se disseminou do SNC para outros pontos.

A administração de anticorpos pode bloquear a progressão do vírus e a doença, se prescritos precocemente.

O longo período de incubação permite a imunização ativa como tratamento pós-exposição.

O vírus replica-se silenciosamente no local de inserção por dias a meses (Fig. 50-2) antes de progredir para o sistema nervoso central (SNC). O vírus da raiva viaja por transporte axoplasmático retrógrado para os gânglios das raízes dorsais e para a medula espinal. Uma vez que o vírus ganha acesso à medula espinal, o cérebro é rapidamente infectado. As áreas afetadas são o hipocampo, o tronco cerebral, as células ganglionares dos núcleos pontinos e as células de Purkinje do cerebelo. O vírus, em seguida, se dissemina do SNC, pelos neurônios aferentes, para locais altamente inervados, como a pele da cabeça e do pescoço, **glândulas salivares**, retina, córnea, mucosa nasal, medula adrenal, parênquima renal e células acinosas pancreáticas. Após o vírus invadir o cérebro e a medula espinal, desenvolve-se encefalite e os neurônios degeneram-se. Apesar do extenso envolvimento do SNC e do prejuízo da sua função, pouca alteração histopatológica pode ser observada no tecido afetado, a não ser a presença dos corpúsculos de Negri (ver a seção sobre Diagnóstico Laboratorial).

7) Infecção da medula espinal, tronco cerebral, cerebelo e outras estruturas cerebrais (8) Infecção descendente do sistema nervoso para olhos glândulas salivares, pele e outros órgãos (6) Ascensão rápida na medula espinal 5) Replicação no gânglio dorsal 3) Ascensão passiva via fibras sensoriais Vírion entra no sistema nervoso periférico Vírus inoculado (2) Replicação viral no músculo

FIGURA 50-2 Patogênese da infecção pelo vírus da raiva. As etapas numeradas descrevem a sequência de eventos. (Modificada de Belshe RB: *Textbook of human virology*, ed 2, St Louis, 1991, Mosby.)

A raiva é fatal desde que a doença clínica seja aparente. A extensão do período de incubação é determinada (1) pela concentração do vírus no inóculo, (2) pela proximidade da ferida com o cérebro, (3) pela gravidade da ferida, (4) pela idade do hospedeiro e (5) pelo estado imune do hospedeiro.

Ao contrário de outras síndromes de encefalite virais, a raiva é minimamente citolítica e raramente causa lesões inflamatórias. As proteínas virais inibem a apoptose e a ação do interferon. Anticorpos neutralizantes não são aparentes até depois que a doença clínica esteja bem estabelecida. Pouco antígeno é liberado e a infecção provavelmente permanece

oculta à resposta imune. A imunidade celular parece desempenhar pouco ou nenhum papel na proteção contra a infecção pelo vírus da raiva.

Os anticorpos podem bloquear a disseminação do vírus para o SNC e o cérebro, se administrados ou gerados pela vacinação durante o período de incubação. O período de incubação é geralmente longo o suficiente para permitir a geração de resposta terapêutica por anticorpos protetores após a imunização ativa com a vacina de vírus rábico inativado.

Epidemiologia

A raiva é a **infecção zoonótica clássica** disseminada de animais para humanos (Quadro 50-3). Ela é mundialmente endêmica em uma variedade de animais, exceto na Austrália. A raiva é mantida e disseminada de duas formas. Na raiva urbana, os cães são o principal transmissor, e na raiva silvestre (das florestas) muitas espécies de animais selvagens podem servir como transmissores. Nos Estados Unidos, a raiva é mais prevalente em gatos, porque não são vacinados. Aerossóis, contendo vírus, mordidas e arranhões de morcegos infectados, também disseminam a doença. O principal reservatório da raiva, na maior parte do mundo, é o cão. Na América Latina e na Ásia, essa característica é um problema, por causa da existência de muitos cães abandonados não vacinados, além da ausência de programas de controle da raiva. Embora raros, existem casos de transmissão de raiva via transplantes de córnea e de órgãos.



Quadro 50-3 Epidemiologia do Vírus da Raiva

Doença/Fatores Virais

O comportamento agressivo induzido pelo vírus em animais infectados promove sua disseminação.

A doença tem longo e assintomático período de incubação.

Transmissão

Zoonose

Reservatório: animais silvestres

Vetor: animais silvestres, cães e gatos não vacinados

Fonte de vírus

Principal: saliva da mordida do animal raivoso (incluindo morcegos)

Secundária: aerossóis em cavernas de morcegos contendo morcegos raivosos

Quem Está sob Risco?

Veterinários e manipuladores de animais

Pessoa mordida por um animal raivoso

Habitantes de países sem programa de vacinação de animais de estimação

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado mundialmente, exceto em algumas nações localizadas em ilhas

Não há incidência sazonal

Meios de Controle

Programa de vacinação está disponível para animais de estimação.

Vacinação está disponível para pessoa sob risco.

Programas de vacinação foram implementados para controlar a raiva em mamíferos silvestres.

Em virtude do excelente programa de vacinação de cães nos Estados Unidos, a raiva silvestre é responsável pela maioria dos casos em animais no país. As estatísticas de raiva animal são coletadas pelos Centers for Disease Control and Prevention (CDC), que, em 1999, registrou mais de 8.000 casos documentados de raiva em guaxinins, gambás, morcegos e animais de fazendas, além de cães e gatos (Fig. 50-3). Texugos e raposas também são importantes portadores de raiva na Europa ocidental. Na América do Sul, morcegos-vampiros transmitem raiva ao gado, resultando em perdas de milhões de dólares a cada ano.

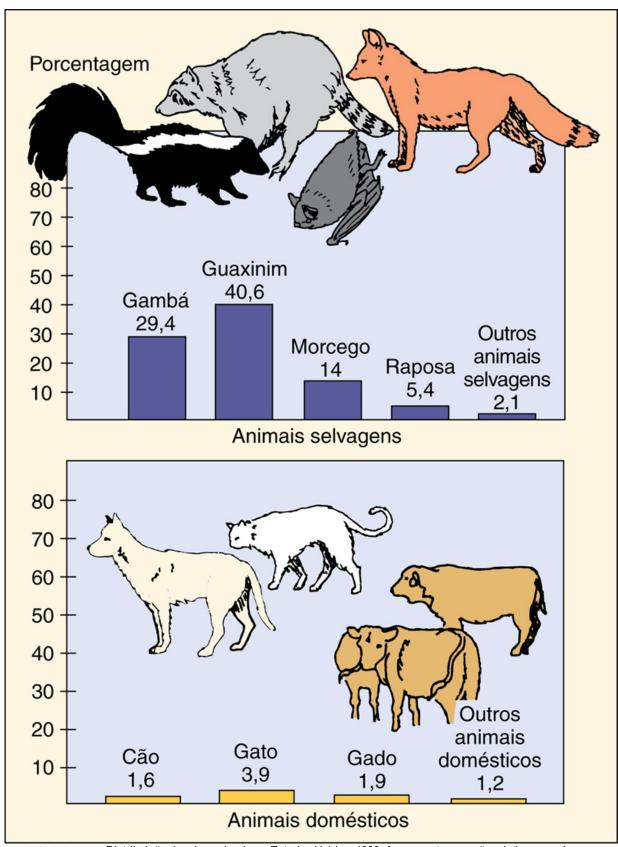


FIGURA 50-3 Distribuição da raiva animal nos Estados Unidos, 1999. As porcentagens são relativas ao número total de casos de raiva animal. (Dados de Krebs JW, Rupprecht CE, Childs JE: Rabies surveillance in the United States during 1999, J Am Vet Med Assoc 217:1799–1811, 2000.)

Embora sub-reportada, é estimado que a raiva cause 55.000 óbitos (na maioria crianças) anualmente em todo o mundo, com pelo menos 20.000 óbitos na Índia, onde o vírus é transmitido por cães em 96% dos casos. Na América Latina, os casos de raiva humana resultam principalmente do contato com cães raivosos em áreas urbanas. Na Indonésia, um surto de raiva com mais de 200 casos em humanos, em 1999, levou à morte de mais de 40.000 cães nas ilhas. A incidência de raiva humana nos Estados Unidos é de aproximadamente 1 caso por ano, decorrente em grande parte dos programas efetivos de vacinação canina e do limitado contato humano com guaxinins, gambás e morcegos. Desde 1990, os casos humanos de raiva nos Estados Unidos foram causados principalmente por variantes do vírus de morcegos. A Organização Mundial da Saúde estima que 10 milhões de pessoas por ano recebam tratamento após exposição a animais suspeitos de estarem com raiva.

Síndromes Clínicas (Quadro 50-4)

A raiva é virtualmente sempre fatal, a não ser quando tratada por vacinação. Após longo, mas variável período de incubação, segue-se a fase prodrômica da raiva (Tabela 50-1). O paciente apresenta sintomas, como febre, mal-estar, cefaleia, dor ou parestesia (prurido) no local da mordida, sintomas gastrointestinais, fadiga e anorexia. O período prodrômico geralmente dura de 2 a 10 dias, após o qual aparecem os sintomas neurológicos específicos da raiva. **Hidrofobia** (medo de água), o sintoma mais característico da raiva, ocorre em 20% a 50% dos pacientes. Ela é desencadeada pela dor associada com tentativas, do paciente, de ingerir água. Convulsões focais e generalizadas, desorientação e alucinações também são comuns durante a fase neurológica. A paralisia (15% a 60% dos pacientes) pode ser a única manifestação da raiva e pode acarretar insuficiência respiratória.



Tabela 50-1

Progressão da Doença Rábica

Fase da Doença	Sintomas	Tempo (Dias)	Status Viral	Status Imunológico
Fase de incubação	Assintomático	60-365 após a mordida	Baixo título, vírus no músculo	_
Fase prodrômica	Febre, náusea, vômito, perda de apetite, cefaleia, letargia, dor no local da mordida	2-10	Baixo título, vírus no SNC e cérebro	_
Fase neurológica	Hidrofobia, espasmos faríngeos, hiperatividade, ansiedade, depressão Sintomas do SNC: perda de coordenação, paralisia, confusão, delírio	2-7	Alto título, vírus no cérebro e em outros locais	Anticorpo detectável no soro e no SNC
Coma	Coma, hipotensão, hipoventilação, infecções secundárias, parada cardíaca	0-14	Alto título, vírus no cérebro e outros locais	_
Morte	_	_	_	_

SNC, Sistema nervoso central.



Quadro 50-4 Resumo Clínico

Raiva: Uma menina de 3 anos encontrou um morcego voando em seu quarto. O morcego aparentemente esteve ali toda a noite. Não havia evidência de mordida ou contato, e o morcego foi apanhado e solto. Três semanas depois, a criança desenvolveu mudança de comportamento, tornando-se irritável e agitada. Esse estado rapidamente progrediu a confusão, agitação incontrolável e incapacidade de controlar suas secreções. Posteriormente, ela se tornou comatosa e morreu de parada respiratória.

O paciente entra em estado de coma após a fase neurológica, que dura de 2 a 10 dias. Essa fase quase universalmente resulta em óbito por complicações neurológicas e pulmonares.

Diagnóstico Laboratorial

A ocorrência de sintomas neurológicos em pessoa mordida por animal geralmente estabelece o diagnóstico de raiva. Infelizmente, evidência de infecção, incluindo sintomas e detecção de anticorpos, não ocorre até que seja demasiado tarde para intervenção. Os testes laboratoriais costumam ser realizados para confirmar o diagnóstico e determinar se um indivíduo ou animal suspeito está raivoso (autópsia).

A detecção de antígeno utilizando imunofluorescência direta ou a detecção do genoma utilizando a reação em cadeia da polimerase após transcriptase reversa (RT-PCR) são ensaios relativamente rápidos e sensíveis, sendo os métodos preferidos para o diagnóstico da raiva. Amostras de saliva são fáceis de testar, mas soro, líquido cefalorraquidiano, material de biópsia de pele da nuca, material cerebral de biópsia ou autópsia e esfregaços de impressão de células epiteliais da córnea também podem ser examinados.

As células infectadas terão inclusões intracitoplasmáticas que consistem em agregados de nucleocapsídeos virais (**corpúsculos de Negri**) em neurônios afetados (Cap. 39, Fig. 39-3). Embora sejam patognomônicos para o diagnóstico da raiva, os corpúsculos de Negri são observados em apenas 70% a 90% dos tecidos de cérebro de humanos infectados.

Os títulos de anticorpos rábicos no soro e no líquido cefalorraquidiano são geralmente medidos por ensaio de imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA). Entretanto, anticorpos não são usualmente detectáveis até a doença tardia.

Tratamento e Profilaxia

A raiva clínica é quase sempre fatal se não for tratada com imunização pós-exposição. Uma vez que os sintomas apareçam, pouco além de tratamento de suporte pode ser realizado. Há um caso de progressão interrompida da doença por tratamento com ribavirina pós-exposição (ver o estudo de caso introdutório).

A profilaxia pós-exposição é a única esperança para prevenir a doença clínica na pessoa afetada. Embora casos humanos de raiva sejam raros, cerca de 20.000 pessoas recebem profilaxia contra raiva a cada ano apenas nos Estados Unidos. A profilaxia deve ser iniciada em qualquer pessoa exposta por mordida ou por contaminação de ferida aberta ou membrana mucosa à saliva ou tecido cerebral de animal suspeito de estar infectado com o vírus, a não ser que o animal seja testado e se demonstre que não está raivoso.

A primeira medida protetora é o tratamento local da ferida. A ferida deve ser lavada imediatamente com água e sabão ou outra substância que inative o vírus. A imunoglobulina antirraiva é injetada próximo à ferida.

Posteriormente, são efetuadas quatro imunizações com a vacina antirrábica no período de duas semanas, com uma dose inicial de imunoglobulina antirrábica humana (HRIG) ou soro antirrábico de origem equina. Imunização passiva com HRIG fornece anticorpos, até que o paciente produza anticorpos em resposta à vacina. A evolução lenta da doença permite que a imunidade ativa seja gerada a tempo de fornecer proteção.

A vacina contra a raiva é uma vacina de vírus morto, preparada por meio da inativação química de células diploides humanas (HDCV) ou de células de embrião de galinha, cultivadas em cultura de tecidos infectados com raiva. Essas vacinas causam menos reações negativas do que as mais antigas (Semple e Fermi), que eram preparadas no cérebro de animais adultos ou lactentes. A monitorização sérica e a vacinação pré-exposição devem ser efetuadas nos trabalhadores que lidam com animais, técnicos de laboratórios que manuseiam tecidos potencialmente infectados e nas pessoas que viajam para áreas onde a raiva é endêmica. A HDCV é administrada por via intramuscular a esses indivíduos e fornece dois anos de proteção.

Finalmente, a prevenção da raiva humana depende do controle efetivo em animais domésticos e selvagens. Seu controle em animais domésticos depende da remoção de animais extraviados e indesejados e da vacinação de todos os cães e gatos. Uma variedade de vacinas orais atenuadas também foi usada com sucesso para imunizar raposas. Vacina de vírus vivo composta de vírus vacínia recombinante, expressando a proteína G do vírus rábico, está em uso nos Estados Unidos. Essa vacina, que é injetada em iscas e lançada de paraquedas dentro da floresta, imuniza, com sucesso, guaxinins, raposas e outros animais. A injeção acidental de uma mulher com essa vacina de vírus recombinante resultou em imunização contra ambas as viroses, varíola e raiva (ver as Referências Bibliográficas).

Filovírus

Os vírus **Marburg** e **Ebola** (Fig. 50-4) foram classificados como membros da família Rhabdoviridae, mas agora são classificados como filovírus (Filoviridae). Eles são vírus filamentosos, envelopados e com RNA de fita negativa. Estes agentes causam febres hemorrágicas graves ou fatais e são endêmicos na África. A atenção sobre o vírus Ebola aumentou após surto da doença no Zaire, em 1995, no Gabão, em 1996, e após o lançamento do filme *Epidemia* (*Outbreak*), baseado no livro de Robin Cook, e no livro *The Hot Zone*, de Richard Preston. Em 2014, uma epidemia de Ebola matou muitos milhares de indivíduos, principalmente nos países da África ocidental como a Libéria, Serra Leoa e Guiné, e alguns casos isolados disseminaram-se por todo o mundo.

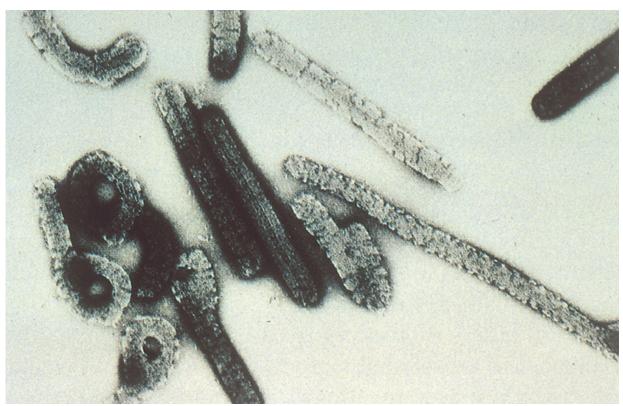


FIGURA 50-4 Micrografia eletrônica do Vírus Ebola. (Cortesia dos Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)

Estrutura e Replicação

Os filovírus possuem genoma de RNA de fita simples (4,5 × 10⁶ Da) que codifica sete proteínas. Os vírions formam filamentos envelopados, com diâmetro de 80 nm, mas podem assumir outras formas. Variam em comprimento de 800 nm até 1.400 nm. O nucleocapsídeo é helicoidal e encerrado em um envelope que contém uma glicoproteína. A glicoproteína (GP) é clivada em dois componentes e é segregada uma versão mais curta. O vírus Ebola liga-se ao receptor Niemann-Pick C1 (NPC1), uma proteína de transferência de colesterol, à imunoglobulina de células T e ao domínio 1 da mucina (TIM-1), sendo este também o receptor do vírus da hepatite A. O vírus entra na célula e replica-se no citoplasma como os rabdovírus.

Patogênese

Os filovírus replicam-se eficientemente, produzindo grandes quantidades de vírus em células endoteliais, monócitos, macrófagos, células dendríticas e outras células. A replicação nos monócitos provoca tempestade de citocinas pró-inflamatórias semelhante à tempestade de citocinas induzida por superantígenos. A citopatogênese viral causa extensa necrose tecidual nas células parenquimatosas de fígado, baço, linfonodos e pulmões. A infecção de células endoteliais interfere na ligação, impede a produção de proteínas de adesão celular e provoca a citólise, levando a lesão e extravasamento vascular. Cepas com mutações no gene dessas glicoproteínas não apresentam o componente hemorrágico da doença. A hemorragia generalizada, que ocorre nos pacientes afetados, causa edema e choque hipovolêmico. O vírus também pode evadir as respostas inatas e imunes do hospedeiro. Uma pequena glicoproteína solúvel é liberada, podendo inibir a ativação de neutrófilos e bloquear a ação de anticorpos. As proteínas virais podem também inibir a produção e a ação do interferon.

Epidemiologia

A infecção pelo vírus Marburg foi detectada pela primeira vez em trabalhadores de laboratório em Marburg, Alemanha, que foram expostos a tecidos de macacos verdes africanos aparentemente saudáveis. Raros casos de infecção pelo vírus Marburg têm sido observados no Zimbábue e no Quênia.

O vírus Ebola recebeu o nome do rio da República Democrática do Congo (antigo Zaire), onde foi descoberto. Surtos da doença causada pelo vírus Ebola têm ocorrido na República Democrática do Congo, no Sudão e, mais recentemente, na Libéria, em Serra Leoa e na Guiné. Durante um surto, o vírus Ebola é tão letal que pode eliminar a população suscetível antes que possa ser extensamente disseminado da região. Em áreas urbanas, a propagação do vírus é mais difícil de controlar. Nas áreas rurais da África central, cerca de 18% da população tem anticorpos contra esse vírus, indicando que infecções subclínicas também ocorrem.

Esses vírus podem ser endêmicos em morcegos ou macacos selvagens, e podem ser disseminados para os humanos e entre humanos. O contato com o reservatório animal ou direto com sangue ou secreções infectadas pode disseminar a doença. Esses vírus foram transmitidos por injeção acidental e por uso de seringas contaminadas. Os profissionais de saúde

que cuidam dos pacientes e os manipuladores de macacos constituem grupo de risco. Em resposta à epidemia de 2014, iniciou-se um rastreio semelhante ao do SARS associado ao coronavírus nos aeroportos principais, e todos os pacientes nos Estados Unidos com sintomas semelhantes à gripe são solicitados a fornecer seu histórico de viagem.

Síndromes Clínicas

Os vírus Marburg e Ebola (Caso Clínico 50-1) são as causas mais graves de febres hemorrágicas virais. A doença usualmente começa com sintomas semelhantes aos da gripe, como cefaleia e mialgia. Náusea, vômito e diarreia ocorrem dentro de poucos dias; exantema também pode se desenvolver. Subsequentemente, hemorragia em múltiplos locais (em especial o trato gastrointestinal) e morte sucedem em até 90% dos pacientes com doença clinicamente evidente.



Caso Clínico 50-1 Ebola

Emond e colaboradores descreveram o caso de infecção por Ebola (Br Med J 2:541-544, 1977). Após seis dias de um acidente com perfuração de agulha ao manipular o fígado de animal infectado com o vírus Ebola, um cientista se queixou de dor abdominal e náusea. Ele foi transferido para uma unidade de doença infecciosa de alta segurança e posto em um quarto de isolamento. Na admissão (dia 1), apresentava fadiga, anorexia, náusea, dor abdominal e febre de 38° C. Interferon foi administrado duas vezes em um dia e parecia estar fazendo efeito, porém na manhã seguinte a febre retornou (39° C). Foi dado soro convalescente inativado pelo calor, sem efeito imediato. No dia 4, suou profusamente e a temperatura voltou ao normal, mas teve exantema novo no tórax. Ao meio-dia do dia 4 apresentou calafrio súbito e violento, febre de 40° C, náusea, vômito e diarreia. Esses sintomas continuaram por três dias, com propagação do exantema através do corpo. No dia 6, mais soro convalescente e tratamento de reidratação foram administrados. O paciente teve recuperação lenta durante as 10 semanas seguintes. O vírus (detectado pela microscopia eletrônica e pela inoculação de cobaias) estava presente no sangue no primeiro dia dos sintomas. (A análise seria executada atualmente por RT-PCR, com menos risco ao pessoal do laboratório.) Os títulos virais caíram 1.000 vezes após o tratamento com interferon e foram indetectáveis no dia 9. O tratamento do paciente e a manipulação das amostras foram executados sob as condições mais estritas de isolamento disponíveis naquele tempo. Embora o cientista tenha tomado as precauções e embebido as mãos em hipoclorito de sódio assim que possível, seu destino já estava selado. Felizmente, a terapia com interferon e o soro convalescente estavam disponíveis para limitar a extensão da progressão da doença. Na ausência desses recursos, o cientista morreria de doença hemorrágica de progressão rápida.

Diagnóstico Laboratorial

Todos os espécimes de pacientes com suspeita de infecção por filovírus devem ser manejados, com extremo cuidado, para prevenir infecção acidental. O manejo desses vírus exige procedimentos de **isolamento nível 4**, que não estão rotineiramente disponíveis. Antígenos virais podem ser detectados em tecido por análise de imunofluorescência direta, e em fluidos por ELISA. Amplificação do genoma viral em secreções por RT-PCR pode ser usada para confirmar o diagnóstico e minimizar a manipulação de amostras.

Tratamento, Prevenção e Controle

Em pacientes com infecções por filovírus foram experimentadas terapêuticas de soro contendo anticorpos, anticorpos produzidos artificialmente (ZMAPP), interferon e ribavirina. Os pacientes infectados devem ser postos em quarentena, e os animais contaminados devem ser sacrificados. A manipulação de vírus, indivíduos infectados, cadáveres e materiais contaminados requer procedimentos de isolamento muito rigorosos (nível 4).

Vírus da Doença de Borna

O vírus da doença de Borna (BDV) é o único membro de uma família de vírus envelopado e de RNA de fita negativa. O BDV foi inicialmente associado a infecção em cavalos na Alemanha. O vírus despertou considerável interesse recentemente, em virtude da sua associação específica com doenças neuropsiquiátricas, como esquizofrenia.

Estrutura e Replicação

O genoma com 8.910 nucleotídeos do BDV codifica cinco proteínas detectáveis, incluindo uma polimerase (L), nucleoproteína (N), fosfoproteína (P), proteína de matriz (M) e glicoproteína do envelope (G). Diferentemente da maioria dos vírus de fita negativa, o BDV se replica no núcleo. Embora seja semelhante aos ortomixovírus, o BDV difere porque o seu genoma não é segmentado.

Patogênese

O BDV é altamente neurotrópico e capaz de se disseminar pelo SNC. O BDV também infecta as células parenquimatosas de diferentes órgãos e células mononucleares do sangue periférico. O vírus não é muito citolítico e estabelece infecção

persistente no indivíduo infectado. A resposta imune por células T é importante para controlar as infecções por BDV, mas também contribui para lesão tecidual que agrava a doença.

Síndromes Clínicas

A despeito da compreensão limitada da doença por BDV em humanos, a infecção de animais pode resultar em perdas súbitas de aprendizado e memória e em meningoencefalite imunomediada fatal. Muitos dos desfechos da infecção por BDV em animais de laboratório se assemelham a doenças neuropsiquiátricas humanas, incluindo depressão, transtorno bipolar, esquizofrenia e autismo. A presença de anticorpos contra o vírus e/ou células mononucleares do sangue periférico infectadas em números mais altos que o nível basal, em pacientes com esquizofrenia, autismo e outras doenças neuropsiquiátricas, sugere que o BDV causa ou exacerba essas doenças mentais.

Epidemiologia

O BDV é capaz de infectar muitas espécies diferentes de mamíferos (zoonose), incluindo cavalos, carneiros e humanos. A maioria dos surtos do vírus ocorreu na Europa central, mas também foi detectado na América do Norte e na Ásia. Nem o reservatório nem o modo de transmissão do BDV são conhecidos. Níveis mais altos de infecção em humanos estão presentes onde foram observados surtos em cavalos.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção pode ser detectada por análise direta do genoma e do RNAm virais em células mononucleares do sangue periférico, utilizando RT-PCR. Análise sorológica de anticorpos contra as proteínas virais continua a ser usada para identificar associação do BDV com doenças humanas.

Tratamento

Semelhantemente a outros vírus de RNA, o BDV é sensível ao tratamento com ribavirina. Esse tratamento pode ser abordagem razoável para alguns transtornos psiconeurológicos, se o BDV for demonstrado como cofator.

Referências Bibliográficas

Anderson LJ, Nicholson TG, Tauxe RV, et al. Human rabies in the United States, 1960-1979: epidemiology, diagnosis, and prevention. Ann Intern Med. 1984;100:728-735.

Centers for Disease Control and Prevention. Rabies vaccine, absorbed: a new rabies vaccine for use in humans. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1988;37:217-223.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Fishbein DB. Rabies. Infect Dis Clin North Am. 1991;5:53-71.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses. ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Plotkin SA. Rabies: state of the art clinical article. Clin Infect Dis. 2000;30:4-12.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Rupprecht CE. Human infection due to recombinant vaccinia-rabies glycoprotein virus. N Engl J Med. 2001;345:582–586.

Schnell MJ, McGettigan JP, Wirblich C, et al. The cell biology of rabies virus: using stealth to reach the brain. Nat Rev Microbiol. 2010;8:51-61.

Steele JH. Rabies in the Americas and remarks on the global aspects. Rev Infect Dis. 1988;10(Suppl 4):S585–S597.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Warrell DA, Warrell MJ. Human rabies and its prevention: an overview. Rev Infect Dis. 1988;10(Suppl 4):S726-S731.

Winkler WG, Bogel K. Control of rabies in wildlife. Sci Am. 1992;266:86-92.

Wunner WH, Larson JK, Dietzschold B, et al. The molecular biology of rabies viruses. Rev Infect Dis. 1988;10(Suppl 4):S771-S784.

Filovírus

Centers for Disease Control and Prevention: Ebola (Ebola virus disease). www.cdc.gov/vhf/ebola/. Acessado em 14 de outubro de 2014.

Groseth A, Feldmann H, Strong JE. The ecology of Ebola virus. Trends Microbiol. 2007;15:408-416.

King JW: Ebola, 2014. http://emedicine.medscape.com/article/216288-overview. Acessado em 14 de outubro de 2014.

Klenk HD. Marburg and Ebola viruses. Curr Top Microbiol Immunol. 1999;235:225.

Mohamadzadeh M, Chen L, Schmaljon AL. How Ebola and Marburg viruses battle the immune system. Nat Rev Immunol. 2007;7:556-567.

Preston R. The hot zone. New York: Random House; 1994.

Sodhi A. Ebola virus disease. Postgrad Med. 1996;99:75-76.

Bornavírus

Jordan I, Lipkin WI. Borna disease virus. Rev Med Virol. 2001;11:37-57.

Richt JA, Pfeuffer I, Christ M, et al. Borna disease virus infection in animals and humans. Emerg Infect

Dis. 1997;3:343–352: www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no3/richt.htm.

vvensiles

Centers for Disease Control and Prevention: Ebola (Ebola virus disease). www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/guinea/. Acessado em 4 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Ebola hemorrhagic fever. www.cdc.gov/vhf/ebola/index.html. Acessado em 11 maio de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Rabies. www.cdc.gov/rabies/. www.cdc.gov/features/dsRabies/index.html. Acessado em 4 de abril de 2015.

Gompf SG, Pham TM, Somboonwit C, et al: Rabies. http://emedicine.medscape.com/article/220967-overview. Acessado em 4 de abril de 2015.

Hatalski CG, Lewis AJ, Lipkin WI. Borna disease. *Emerg Infect Dis.* 1997;3:129–135: www.cdc.gov/ncidod/EID/vol3no2/hatalski.htm. Acessado em 4 de abril de 2015.

Kapitanyan R, Pryor PW II, Bertolini J, et al. Emergency treatment of rabies. http://emedicine.medscape.com/article/785543-overview. Acessado em 4 de abril de 2015.

King JW, Markanday A: Ebola virus. http://emedicine.medscape.com/article/216288-overview. Acessado em 4 de abril de 2015.

Richt JA, et al. Borna disease virus infection in animals and humans. Emerg Infect

Dis. 1997;3:129–135: wwwnc.cdc.gov/eid/article/3/3/pdfs/97-0311.pdf. Acessado em 11 de maio de 2015.

WHO: Rabies. www.who.int/topics/rabies/en/. Acessado em 4 de abril de 2015.

^{*} Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention: Recovery of a patient from clinical rabies—Wisconsin, 2004, MMWR Morb Mortal Wkly Rep 53:1171–1173, 2004.

CAPÍTULO 52

Togavírus e Flavivírus

Uma menina indonésia de 5 anos morreu de choque hemorrágico. A presença do vírus da dengue sorotipo 3 no sangue foi confirmada por reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR).

- 1. Como a criança foi infectada com o vírus da dengue?
- 2. Quais são as doenças causadas pelo vírus da dengue?
- 3. Quais tipos de resposta imune são protetores? Algum é potencialmente nocivo?
- 4. Onde a dengue é prevalente? Por quê?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Togavírus

Palavras-gatilho

Arbovírus: mosquito, encefalite

Rubéola: sarampo alemão, doença congênita, erupção cutânea, vacina

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho pequeno, envelope envolve a nucleocapsídeo icosaédrico, genoma de RNA (+)
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replicando-se no citoplasma.
- Produção quer de RNAm, quer de proteínas, nas fases precoce e tardia
- Os anticorpos podem bloquear a doença
- O vírus propaga-se por via sanguínea aos neurônios e cérebro
- Pródromos de sintomas semelhantes aos da gripe decorrentes da resposta do interferon e das citocinas
- Arbovírus: vírus da encefalite equina (WEE, EEE, VEE)
- Rubéola: erupção cutânea benigna infantil, glândulas inchadas. Complicações em adultos: artrite, encefalite. Infecção congênita: teratogênica, cataratas, surdez, microcefalia etc.

Epidemiologia

• Arbovírus:

Zoonose

Reservatório em aves

Os vetores são os mosquitos Aedes e Culex

Rubéola:

Propagação por aerossóis, afetando apenas o ser humano

Indivíduos não vacinados em risco

Fetos com elevado risco

Diagnóstico

• RT-PCR, ELISA

Tratamento, Prevenção e Controle

- Arbovírus: controle dos mosquitos
- Vacina da rubéola viva atenuada (na vacina MMR) administrada a crianças com 1 ano reforço entre os 4-6 anos

Flavivírus

Palavras-gatilho

Arbovírus: mosquito, encefalite

Vírus da hepatite C: ver Capítulo 55, Vírus da Hepatite

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho pequeno, com envelope a envolver a nucleocapsídeo icosaédrico, genoma de RNA (+)
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replicando-se no citoplasma
- Os anticorpos neutralizadores podem bloquear a doença
- Os anticorpos não neutralizadores promovem a infecção pelo vírus da dengue
- O vírus propaga-se por via sanguínea aos neurônios e cérebro
- Pródromos de sintomas semelhantes aos da gripe decorrentes da resposta do interferon e das citocinas
- Arbovírus
- Vírus da encefalite: vírus St. Louis, vírus do Nilo ocidental e vírus da encefalite japonesa
- Doença hemorrágica:

Febre amarela: icterícia, vômito negro

Dengue: febre hemorrágica, febre quebra-ossos (breakbone), síndrome de choque por dengue

Epidemiologia

- Endêmicos no habitat do mosquito
- Arbovírus:

Zoonose

Reservatórios em aves

Os vetores são os mosquitos Aedes ou Culex

Diagnóstico

• RT-PCR, ELISA

Tratamento, Prevenção e Controle

- Arbovírus: controle dos mosquitos
- Vírus da febre amarela: vacina viva atenuada

Os membros das famílias Togaviridae e Flaviviridae são vírus de ácido ribonucleico (RNA) de cadeia única, de sentido positivo e envelopados (Quadro 52-1). O gênero *Alphavirus* dos togavírus e o gênero *Flavivirus* serão discutidos em conjunto, em razão das similaridades entre as doenças que causam e da sua epidemiologia. A maioria é transmitida por artrópodes e, portanto, são **arbovírus** (vírus arthropod-borne). Diferem em tamanho, morfologia, sequência de gene e replicação.



Quadro 52-1 Características Específicas dos Togavírus e dos Flavivírus

Os vírus têm RNA de cadeia única, sentido positivo e são envelopados.

A replicação dos togavírus inclui síntese de proteínas precoces (não estruturais) e tardias (estruturais).

Os togavírus replicam-se no citoplasma e brotam nas membranas plasmáticas.

Os flavivírus replicam-se no citoplasma e brotam nas membranas intracelulares.

A família Togaviridae (togavírus) pode ser classificada nos seguintes gêneros principais (Tabela 52-1): *Alphavirus, Rubivirus* e *Arterivirus*. Nenhum arterivírus conhecido pode ocasionar doença em humanos; por isso esse gênero não será discutido posteriormente. O vírus da **rubéola** é o único membro do grupo dos *Rubivirus*; ele será discutido separadamente em virtude de sua manifestação (**sarampo alemão**) e de sua maneira de transmissão diferir da propagação dos alfavírus. A família Flaviviridae inclui flavivírus, pestivírus e hepacivírus (vírus das hepatites C e G). As hepatites C e G serão discutidas no Capítulo 55.



Togavírus e Flavivírus

Grupo de Vírus	Patógenos Humanos	
Togavírus		
Alphavirus	Arbovírus	
Rubivirus	Vírus da rubéola	
Arterivirus	Nenhum	
Flavivírus	Arboviroses	
Hepaciviridae	Vírus da hepatite C	
Pestivirus	Nenhum	

Alfavírus e Flavivírus

Alfavírus e flavivírus são classificados como arbovírus porque são geralmente disseminados por vetores artrópodes. Esses vírus têm **ampla variação de hospedeiros**, incluindo vertebrados (p. ex., mamíferos, pássaros, anfíbios, répteis) e invertebrados (p. ex., mosquitos, carrapatos). As doenças que se disseminam por intermédio dos animais ou de um reservatório animal são chamadas de **zoonoses**. Exemplos de alfavírus e flavivírus patogênicos estão listados na Tabela 52-2.



Arbovírus

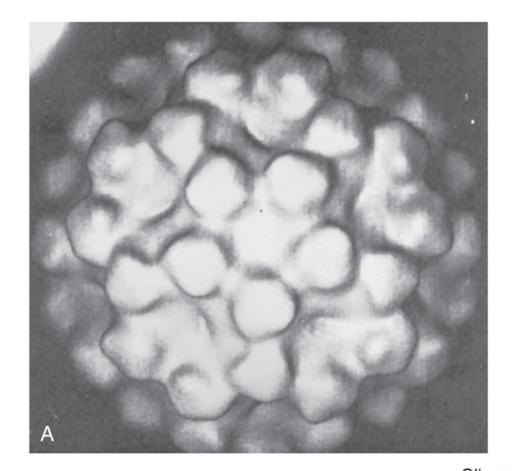
Vírus	Vetor	Hospedeiro	Distribuição	Doença
Alfavírus				
Sindbis*	Aedes e outros mosquitos	Pássaros	África, Austrália, Índia	Subclínica
Floresta Semliki*	Aedes e outros mosquitos	Pássaros	Leste e oeste da África	Subclínica
Encefalite equina venezuelana	Aedes, Culex	Roedores, cavalos	Américas do Norte, do Sul e Central	Sistêmica leve; encefalite grave
Encefalite equina do leste	Aedes, Culiseta	Pássaros	Américas do Norte, do Sul e Caribe	Sistêmica leve; encefalite
Encefalite equina do oeste	Culex, Culiseta	Pássaros	Américas do Norte e do Sul	Sistêmica leve; encefalite
Chicungunya	Aedes	Humanos, macacos	África, Ásia	Febre, artralgia, artrite
Flavivírus				
Dengue*	Aedes	Humanos, macacos	Mundial, especialmente nos trópicos	Sistêmica leve: febre quebra-ossos, febre hemorrágica da dengue e síndrome de choque da dengue
Febre amarela*	Aedes	Humanos, macacos	África, América do Sul	Hepatite, febre hemorrágica
Encefalite japonesa	Culex	Porcos, pássaros	Ásia	Encefalite
Encefalite do Nilo ocidental	Culex	Pássaros	África, Europa, Ásia Central, América do Norte	Febre, encefalite, hepatite
Encefalite de St. Louis	Culex	Pássaros	América do Norte	Encefalite
Encefalite de primavera-verão russa	Carrapatos Ixodes e Dermacentor	Pássaros	Rússia	Encefalite
Encefalite de Powassan	Carrapatos Ixodes	Mamíferos pequenos	América do Norte	Encefalite

^{*} Vírus prototípico.

Estrutura e Replicação dos Alfavírus

Os alfavírus têm um **capsídeo icosaédrico** e um genoma RNA de fita simples e sentido positivo parecido com o RNA mensageiro (RNAm). Eles são levemente maiores que os picornavírus (45 a 75 nm de diâmetro) e envoltos por um **envelope** (do latim *toga*, "manto"). O genoma do togavírus codifica **proteínas precoces** e **tardias**.

Os alfavírus têm duas ou três glicoproteínas que se associam formando uma única espícula. A terminação caboxila (COOH) das glicoproteínas se ancora ao capsídeo, forçando o envelope a se compactar fortemente ("embrulho apertado") e assumir a forma do capsídeo (Fig. 52-1). As proteínas do capsídeo de todos os alfavírus são similares em estrutura e apresentam reatividade cruzada antigeneticamente. Os vírus podem ser agrupados (complexos) e também distinguidos por diferentes determinantes antigênicos nas glicoproteínas do seu envelope.



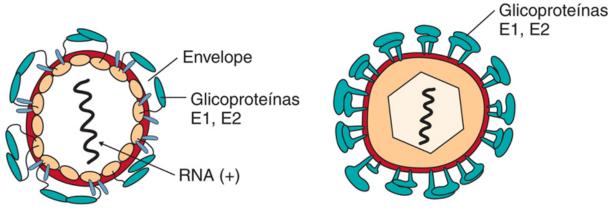


FIGURA 52-1 Morfologia do alfavírus. **A,** Morfologia do vírion do alfavírus obtida por microscopia crioeletrônica e processamento de imagens para mostrar que o envelope é mantido apertado e se conforma ao formato icosaédrico e à simetria do capsídeo. **B,** Secção do α-togavírus. O envelope encontra-se firmemente associado ao capsídeo. **C,** Secção do flavivírus. O envelope de proteína circunda a membrana do envelope, que engloba um nucleocapsídeo icosaédrico. *RNA*, Ácido ribonucleico. (**A,** De Fuller SD: The T = 4 envelope of Sindbis virus is organized by interactions with a complementary T = 3 capsid, *Cell*48:923-934, 1987.)

Os alfavírus se fixam a receptores específicos expressos em muitos tipos diferentes de células de muitas espécies diferentes (Fig. 52-2). A variação de hospedeiros para esses vírus inclui vertebrados (p. ex., humanos, macacos, cavalos, pássaros, répteis, antíbios) e invertebrados (p. ex., mosquitos, carrapatos). Entretanto, os vírus individuais têm tropismo por diferentes tecidos, o que, de certa maneira, contribui para as diversas apresentações das doenças.

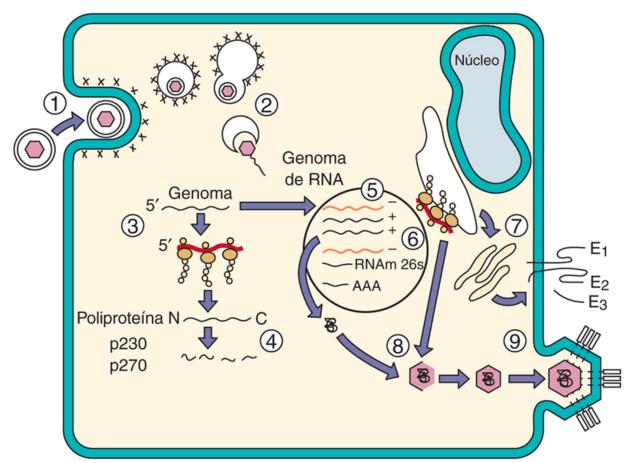


FIGURA 52-2 Replicação de um togavírus. 1, Togavírus se ligam a receptores celulares e são internalizados em uma vesícula coberta. 2, Na acidificação do endossomo, o envelope viral se funde com a membrana do endossomo para liberar o nucleocapsídeo dentro do citoplasma. 3, Ribossomos se ligam ao genoma do ácido ribonucleico (RNA) de sentido positivo e as proteínas precoces p230 ou p270 (de comprimento inteiro) são feitas. 4, As poliproteínas são clivadas para produzir proteínas não estruturais 1 a 4 (NSP1 a NSP4), que incluem uma polimerase para transcrever o genoma em um molde de RNA de sentido negativo. 5, As enzimas de replicação reúnem-se sobre suportes da membrana celular e o molde é usado para produzir um genoma de RNAm de sentido positivo 42S, de comprimento inteiro, e depois um RNAm 26S para as proteínas estruturais. 6, A proteína do capsídeo (C) é traduzida, em primeiro lugar, e clivada. Um peptídeo sinalizador é exposto, o peptídeo associa-se ao retículo endoplasmático 7, onde as glicoproteínas E são sintetizadas e glicosiladas. Elas são transferidas para o aparelho de Golgi e, posteriormente, para a membrana plasmática. 8, As proteínas do capsídeo fazem a automontagem com o RNA genômico 42S e então se associam com regiões das membranas citoplasmática e plasmática contendo espículas de proteínas E1, E2 e E3. 9, Brotamento a partir da membrana plasmática libera o vírus. AAA, poliadenilato; RNAm, ácido ribonucleico mensageiro.

O vírus entra na célula por meio de endocitose mediada por receptor (Fig. 52-2). O envelope viral então se funde com a membrana do endossomo por acidificação da vesícula, para direcionar o capsídeo e o genoma para dentro do citoplasma.

Uma vez liberados dentro do citoplasma, os genomas dos alfavírus ligam-se aos ribossomos como RNAm. O genoma do alfavírus é traduzido nas fases precoce e tardia. Os dois terços iniciais do RNA do alfavírus são traduzidos em uma poliproteína, que é, subsequentemente, clivada em quatro proteínas precoces não estruturais (NSP 1 até 4). A protease é parte dessa poliproteína e precede o ponto de clivagem. Cada uma dessas proteínas é uma porção da RNA-polimerase RNA-dependente. As enzimas para a replicação do genoma reúnem-se em um suporte de membrana, um RNA completo, de 42S, de sentido negativo, é sintetizado como molde para replicação do genoma, e mais RNAm de 42S, de sentido positivo, são produzidos. Além disso, um RNAm tardio de 26S, correspondendo a um terço do genoma, é transcrito a partir do molde. O RNA de 26S codifica as proteínas do capsídeo (C) e do envelope (E1 até E3). No fim do ciclo de replicação, o RNAm viral pode representar 90% do RNAm na célula infectada. A abundância de RNAms tardios permite a produção de grande quantidade de proteínas estruturais necessárias para o empacotamento do vírus.

As proteínas estruturais são produzidas, por clivagem, pela protease das poliproteínas tardias que foram produzidas a partir do RNAm de 26S. A proteína C é traduzida primeiro e é clivada da poliproteína. Uma sequência de sinais é feita para associar os polipeptídeos nascentes com o retículo endoplasmático. A partir deste ponto, glicoproteínas do envelope são traduzidas, glicosiladas e clivadas da porção remanescente da poliproteína para produzir as espículas glicoproteícas E1, E2 e E3. A E3 é liberada da maioria das espículas de glicoproteínas dos alfavírus. As glicoproteínas são processadas pela maquinaria celular normal no retículo endoplasmático e aparelho de Golgi e também são acetiladas e aciladas com ácidos graxos de cadeia longa. As glicoproteínas dos alfavírus são, em seguida, eficientemente transferidas para a membrana plasmática.

As proteínas C se associam ao RNA genômico logo após sua síntese e formam um capsídeo icosaédrico. Completado esse passo, o capsídeo se associa com porções da membrana, expressando as glicoproteínas virais. O capsídeo do alfavírus tem

pontos de ligação para a terminação C das espículas de glicoproteína, que fixa firmemente o envelope em torno de si, como um pacote compactado (Figs. 52-1 e 52-2). Os alfavírus são liberados por brotamento na membrana plasmática.

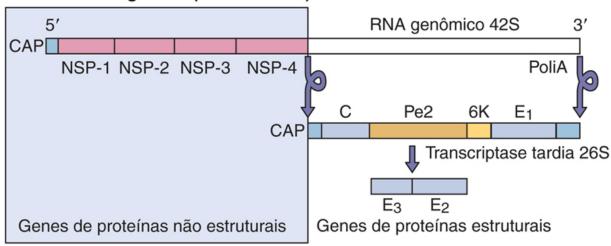
É interessante saber que o vírus da encefalite equina do oeste (WEEV, do inglês, western equine encephalitis virus) foi criado por uma recombinação de dois alfavírus, o vírus da encefalite equina do Leste (EEEV, do inglês, eastern equine encephalitis virus) e o vírus Sindbis. O início do genoma do WEEV é quase idêntico ao do EEEV, com glicoproteínas e genes de virulência similares, enquanto o final do genoma parece o do Sindbis.

Estrutura e Replicação dos Flavivírus

Os flavivírus também têm um genoma RNA de cadeia positiva, um capsídeo icosaédrico e um envelope, mas são levemente menores que os alfavírus (40 a 65 nm de diâmetro). A glicoproteína viral E se dobra por cima, pareando com outra glicoproteína E, e cobre a superfície do vírion para formar uma camada externa de proteína (Fig. 52-1). A maioria dos flavivírus está antigenicamente relacionada e os anticorpos contra um vírus podem neutralizar outro vírus.

A fixação e a penetração dos flavivírus podem ocorrer da mesma maneira descrita para os alfavírus. O anticorpo pode aumentar a infecciosidade e promover a captação dos vírus nos macrófagos, monócitos e outras células que possuem receptores de Fc, quando o vírus se encontrar revestido com anticorpo. As principais diferenças entre os alfavírus e os flavivírus estão na organização de seus genomas e nos seus mecanismos de síntese de proteínas. O genoma inteiro do flavivírus é traduzido em uma única poliproteína, de maneira similar ao processo para os picornavírus e para os alfavírus (Fig. 52-3). Como resultado, não há distinção temporal na tradução das diferentes proteínas virais. A poliproteína produzida na febre amarela contém cinco proteínas não estruturais, incluindo uma protease e componentes da RNA-polimerase RNA-dependente, mais as proteínas estruturais do capsídeo e do envelope.

Genoma dos togavírus (vírus Sindbis)



Genoma dos Flavivírus (vírus da febre amarela)

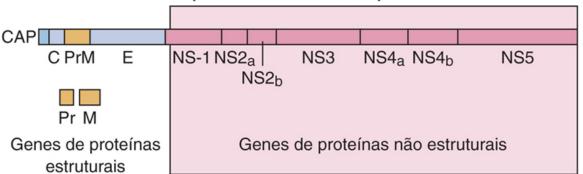


FIGURA 52-3 Comparação entre os genomas dos togavírus (alfavírus) e dos flavivírus. *Alfavírus*: As atividades enzimáticas são traduzidas a partir da terminação 5' do genoma que entrou na célula, promovendo rapidamente sua tradução precoce. As proteínas estruturais são traduzidas depois a partir de um RNAm menor transcrito de um molde genômico. *Flavivírus*: Os genes para as proteínas estruturais dos flavivírus estão na terminação 5' do genoma/RNAm e é feita apenas uma espécie de poliproteína, que representa o genoma inteiro. *PoliA*, poliadenilato.

Diferentemente do genoma do alfavírus, os genes estruturais estão na terminação 5' do genoma dos flavivírus. Como resultado, as porções da poliproteína, contendo as proteínas estruturais (não as catalíticas), são sintetizadas primeiramente e com a maior eficiência possível. Esse arranjo pode permitir a produção de mais proteínas estruturais, mas diminui a

eficiência da síntese de proteínas não estruturais e o início da replicação viral. Essa característica dos flavivírus pode contribuir para o atraso na detecção de sua replicação.

Todas as poliproteínas do flavivírus se associam com a membrana do retículo endoplasmático e logo são clivadas em seus componentes. Diferentemente dos togavírus, os flavivírus adquirem seu envelope por brotamento dentro do retículo endoplasmático, em vez de na superfície celular. O vírus é então liberado por exocitose ou por mecanismo de lise celular. Essa via é menos eficiente e o vírus pode permanecer associado com a célula.

Patogênese e Imunidade

Como os arbovírus são adquiridos pela mordida de um artrópode como um mosquito, é importante conhecer o curso da infecção tanto no hospedeiro vertebrado quanto no vetor invertebrado para a compreensão das doenças. Esses vírus podem causar infecções líticas ou persistentes tanto nos hospedeiros vertebrados quanto nos invertebrados (Quadro 52-2). Infecções de invertebrados são usualmente persistentes, com produção contínua de vírus.



Quadro 52-2 Mecanismos Patológicos dos Togavírus e dos Flavivírus

Os vírus são citolíticos, exceto os vírus da rubéola e da hepatite C.

Os vírus estabelecem viremia e infecção sistêmica.

Os vírus são bons indutores de interferon e citocinas, que pode contribuir para os sintomas semelhantes aos da gripe durante o período prodrômico.

Os vírus, exceto os vírus da rubéola e hepatite C, são arbovírus.

Os flavivírus podem infectar células da linhagem monócito-macrófago. Anticorpo não neutralizante pode aumentar a infecção por flavivírus via receptores Fc nas células.

	Síndrome Semelhante à Gripe	Encefalite	Hepatite	Hemorragia	Choque
Dengue	+		+	+	+
Febre amarela	+		+	+	+
Encefalite de St. Louis	+	+			
Encefalite do Nilo ocidental	+	+			
Encefalite venezuelana	+	+			
Encefalite equina do oeste	+	+			
Encefalite equina do leste	+	+			
Encefalite japonesa	+	+			

A morte de uma célula infectada é o resultado de uma combinação de lesões induzidas pelo vírus. Grande quantidade de RNA viral, produzida na replicação e transcrição do genoma viral, bloqueia a ligação do RNAm celular com os ribossomos. A permeabilidade aumentada da membrana da célula-alvo e as alterações nas concentrações de íons podem alterar as atividades das enzimas e favorecer a tradução do RNAm viral em vez do RNAm celular. O deslocamento do RNAm celular da maquinaria da síntese de proteínas evita a reconstrução e a manutenção da célula e é a causa principal de morte da célula infectada pelo vírus.

Os mosquitos fêmeas adquirem alfavírus e flavivírus por se alimentarem de sangue de um hospedeiro vertebrado virêmico. Uma viremia suficiente deve ser mantida no hospedeiro vertebrado para permitir que se obtenha o vírus pelo mosquito. O vírus, então, infecta as células epiteliais do intestino médio do mosquito, dissemina-se através da lâmina basal do intestino médio para a circulação e infecta as glândulas salivares. O vírus determina uma infecção persistente e se replica em altas titulações nessas células. As glândulas salivares em seguida podem liberar o vírus pela saliva. No entanto, nem todas as espécies de artrópodes suportam esse tipo de infecção. Por exemplo, o vetor normal para o WEEV é o mosquito Culex tarsalis, mas certas cepas do vírus são limitadas ao intestino médio dos mosquitos, não conseguem infectar suas glândulas salivares e, portanto, não podem ser transmitidas para humanos.

Ao picar um hospedeiro, a fêmea do mosquito regurgita saliva contendo vírus dentro da corrente sanguínea do hospedeiro. O vírus, então, circula livremente no plasma do hospedeiro e entra em contato com células-alvo suscetíveis, como as células endoteliais de capilares, monócitos, células dendríticas e macrófagos.

A natureza final da doença por alfavírus e flavivírus é determinada (1) pelo tropismo tecidual específico do tipo de vírus, (2) pela concentração de vírus infectantes, e (3) pelas respostas individuais do hospedeiro à infecção. Esses vírus estão associados com doença sistêmica leve, encefalite, doença artrogênica ou doença hemorrágica.

A viremia inicial produz sintomas sistêmicos, como febre, calafrios, cefaleia, lombalgias e outros sintomas semelhantes aos da gripe, dentro de 3-7 dias após a infecção. A maioria desses sintomas podem ser atribuídos aos efeitos do interferon e outras citocinas produzidos em resposta à viremia e à infecção das células do hospedeiro. A maioria das infecções virais não

progride para além da doença sistêmica leve associada com a viremia. Uma viremia secundária pode produzir vírus suficiente para infectar órgãos-alvo (p. ex., cérebro, fígado, pele, vasos), dependendo do tropismo tecidual do vírus (Fig. 52-4). O vírus ganha acesso ao cérebro por meio da infecção das células endoteliais que cobrem os pequenos vasos do cérebro ou do plexo coroide. A doença hemorrágica e o choque, tal como no caso do vírus do dengue, resultam da citólise viral e da citólise imunoinduzida das células endoteliais vasculares infectadas, exacerbadas pela grande produção de citocinas (tempestade de citocinas), que induz extravasamentos vasculares.

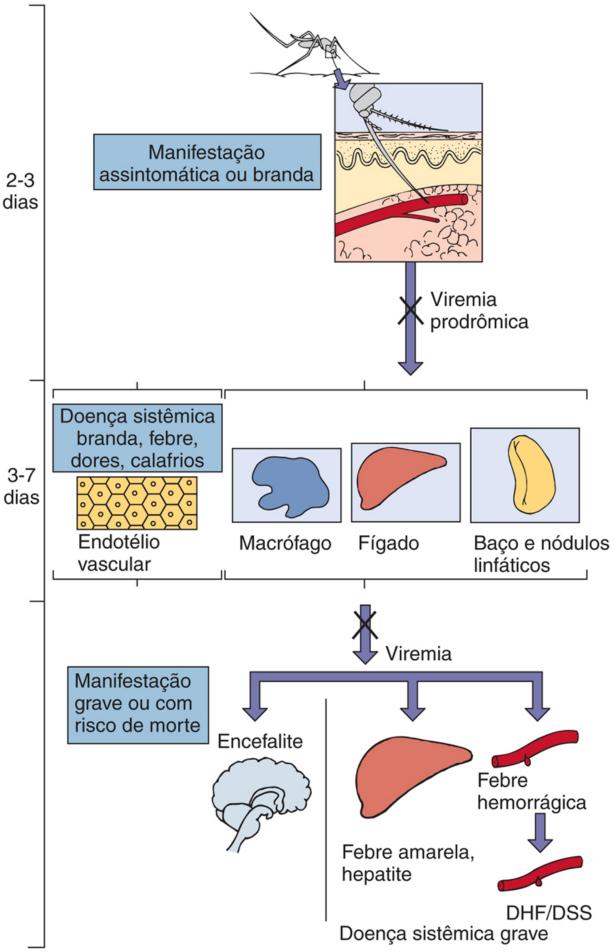


FIGURA 52-4 Síndromes de doenças dos alfavírus e dos flavivírus. Viremia primária pode estar associada com doença sistêmica leve. A maioria das infecções se limita a isso. Se for produzido vírus suficiente durante a viremia secundária para escapar da proteção imune inata e alcançar tecidos-alvo críticos, poderá haver a ocorrência de doença sistêmica grave ou encefalite. Se o anticorpo (X) está presente, a viremia é bloqueada. Para o vírus da dengue, uma reinfecção com outra cepa pode resultar na febre hemorrágica da

dengue (DHF) grave, que pode causar a síndrome de choque da dengue (DSS) em consequência da perda de líquidos através dos vasos.

As células-alvo primárias dos flavivírus são da linhagem monócito-macrófago. Embora sejam encontradas em todo o corpo e possam ter muitas características diferentes, elas expressam receptores Fc para anticorpos e liberam citocinas quando ameaçadas. A infecção por flavivírus é aumentada em 200 a 1.000 vezes pelo anticorpo antiviral não neutralizante que promove a ligação do vírus aos receptores Fc e sua entrada na célula.

Resposta Imune

A replicação de alfavírus e flavivírus produz um RNA replicativo intermediário de dupla-fita que é bom indutor de interferon (IFN)- α e IFN- β . O interferon limita a replicação do vírus e também é liberado na corrente sanguínea para estimular respostas inatas e imunes. O interferon e outras citocinas são produzidos após infecção de células dendríticas plasmocitoides e outras células no sangue, originando um início rápido dos sintomas semelhantes à gripe, característicos da doença sistêmica leve.

A imunoglobulina (Ig)M circulante é produzida dentro de seis dias após a infecção, seguida pela produção de IgG. Os anticorpos para a proteína de ligação viral bloqueiam a propagação virêmica do vírus e subsequente infecção de outros tecidos. Pelo reconhecimento de antígenos dos tipos comuns expressos em todos os vírus na família, a imunidade a um flavivírus pode fornecer alguma proteção contra a infecção por outros flavivírus. A imunidade mediada por células também é importante no controle da infecção primária.

A imunidade a esses vírus é uma faca de dois gumes. A inflamação resultante da resposta imunomediada por células pode destruir tecidos e contribuir significativamente para a patogênese da encefalite. As reações de hipersensibilidade (iniciadas pela formação de imunocomplexos com vírions e antígenos virais) e a ativação do complemento podem causar artrites e contribuir para os sintomas hemorrágicos. Um anticorpo para outro flavivírus que não neutraliza o vírus pode aumentar a captação de flavivírus nos macrófagos e outras células que expressam receptores de Fc. As respostas imunes a uma estirpe relacionada com o vírus da dengue que não previnem a infecção, podem agravar a imunopatogênese, levando a uma febre hemorrágica por dengue ou à síndrome do choque da dengue.

Epidemiologia

Alfavírus e a maioria dos flavivírus são protótipos de arbovírus (Quadro 52-3). Para ser um arbovírus, o vírus precisa ser capaz de (1) infectar vertebrados e invertebrados, (2) iniciar uma viremia em hospedeiro vertebrado por tempo suficiente que permita a aquisição do vírus pelo vetor invertebrado, e (3) iniciar infecção produtiva persistente das glândulas salivares dos invertebrados para fornecer vírus para a infecção de outros animais hospedeiros. **Os humanos são geralmente os hospedeiros "finais"**, pois não conseguem disseminar o vírus de volta para o vetor porque eles não mantêm viremia persistente. *Se o vírus não está no sangue, o mosquito não consegue adquiri-lo.* Um ciclo completo de infecção ocorre quando o vírus é transmitido pelo vetor artrópode e amplificado em hospedeiro suscetível sem imunidade prévia **(reservatório)**, que permite a reinfecção de outros artrópodes (Fig. 52-5). Vetores, hospedeiros naturais e distribuição geográfica dos alfavírus e dos flavivírus representativos estão listados na Tabela 52-2.



Quadro 52-3 Epidemiologia da Infecção Causada por Alfavírus e Flavivírus

Doença/Fatores Virais

O vírus envelopado deve permanecer úmido e pode sofrer inativação por secagem, sabão e detergentes.

O vírus pode infectar mamíferos, pássaros, répteis e insetos.

É assintomático ou inespecífico (febre ou calafrios semelhantes à gripe), encefalite, febre hemorrágica ou artrite.

Transmissão

Artrópodes específicos característicos de cada vírus (zoonoses: arbovírus)

Quem Está sob Risco?

Pessoas que entram no nicho ecológico dos artrópodes infectados por arbovírus.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Regiões endêmicas para cada arbovírus são determinadas pelo habitat do mosquito ou outro vetor.

O mosquito Aedes, que transmite a dengue e a febre amarela, é encontrado em áreas urbanas e em poças de água.

O mosquito *Culex*, que transmite os vírus da encefalite de St. Louis e da encefalite do Nilo ocidental, é encontrado na floresta e em áreas urbanas.

A doença é mais comum no verão.

Meios de Controle

Os ambientes de procriação do mosquito e o próprio mosquito devem ser eliminados.

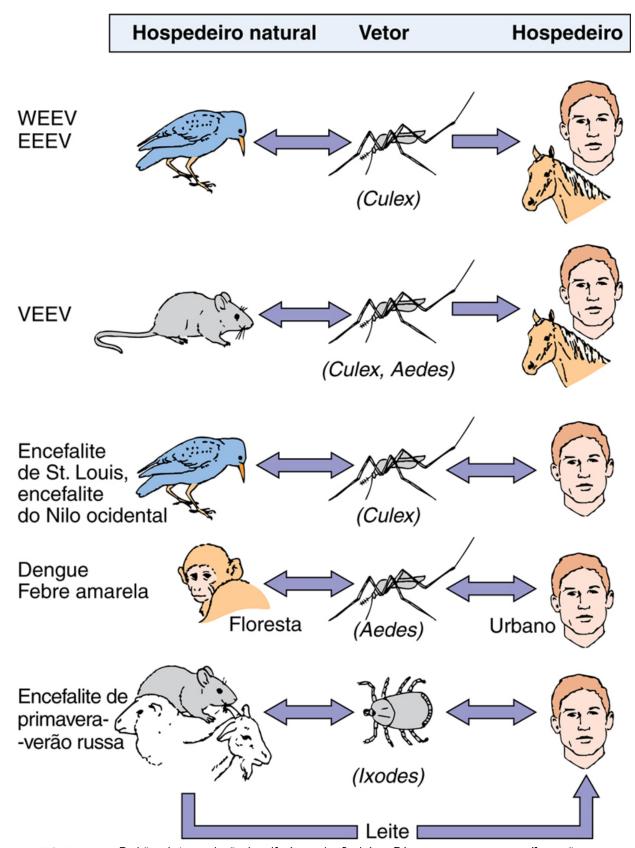


FIGURA 52-5 Padrões de transmissão dos alfavírus e dos flavivírus. Pássaros e pequenos mamíferos são os hospedeiros que mantêm e amplificam um arbovírus, que é disseminado pelo inseto vetor quando ele se alimenta de sangue. Uma seta de dois sentidos indica um ciclo de replicação nos hospedeiros (incluindo o homem) e no vetor. Infecções "interrompidas", sem transmissão do vírus de volta para o vetor, estão indicadas pela seta de único sentido. EEEV, Vírus da encefalite equina do leste; VEEV, vírus da encefalite equina venezuelana; WEEV, vírus da encefalite equina do oeste.

Com frequência, esses vírus estão restritos a um vetor artrópode específico, seu hospedeiro vertebrado e seu nichoecológico. O vetor mais comum é o mosquito, mas carrapatos e mosquitos-palha disseminam alguns arbovírus. Mesmo em uma região tropical invadida por mosquitos, a disseminação desses vírus ainda é restrita a um gênero específico

de mosquitos. Nem todos os artrópodes podem agir como bons vetores para cada vírus. Por exemplo, o Culex quinquefasciatus é resistente à infecção pelo WEEV (alfavírus), mas é excelente vetor para o vírus da encefalite de St. Louis (flavivírus).

Pássaros e mamíferos pequenos são os hospedeiros reservatórios usuais para alfavírus e flavivírus, mas répteis e anfíbios também podem agir como hospedeiros. Grande população de animais virêmicos pode ocorrer nessas espécies e continuar o ciclo de infecção do vírus. Por exemplo, o vírus da encefalite do Nilo ocidental (WNV, West Nile encephalitis virus) foi primeiramente observado em 1999 como um surto em Nova York, pelas mortes incomuns de pássaros cativos no zoológico do Bronx. Análise por RT-PCR identificou o vírus como WNV. O vírus é transmitido pelo mosquito Culex pipiens e corvos, gralhas-azuis e outros pássaros selvagens, que são seus reservatórios. O vírus se disseminou por todos os Estados Unidos e, em 2006, o vírus e a doença humana foram observados em quase todos os estados. WNV estabelece viremia em humanos suficiente para ser um fator de risco para transmissão por meio de transfusões de sangue. O relato de dois desses casos resultou no rastreamento de WNV em doadores de sangue e rejeição dos doadores que tinham febre e cefaleia durante a semana de doação de sangue.

As doenças causadas por arbovírus ocorrem durante os meses do verão e nas estações chuvosas, quando os artrópodes procriam e os arbovírus fazem o ciclo entre um hospedeiro reservatório (pássaros), um artrópode (p. ex., mosquitos) e hospedeiros humanos. Esse ciclo mantém e aumenta a quantidade de vírus no ambiente. No inverno, o vetor não está presente para manter o vírus. O vírus pode (1) persistir nas larvas do artrópode ou nos ovos de répteis ou anfíbios que permanecem no local ou (2) migrar com os pássaros e retornar durante o verão.

Quando humanos viajam para nichos ecológicos do mosquito vetor, correm o risco de ser infectados pelo vírus. Poças de água parada, canais de drenagem e depósitos de lixo em cidades também podem promover terrenos de procriação para mosquitos como Aedes aegypti, o vetor para a febre amarela, a dengue e chicungunya. Aumento na população desses mosquitos, como tem ocorrido nos Estados Unidos, põe a população humana em risco para a infecção. Departamentos de saúde em muitas áreas monitoram pássaros e mosquitos capturados em armadilhas para arbovírus e iniciam medidas de controle, como o emprego de inseticidas, quando necessário.

Surtos urbanos de infecções por arbovírus ocorrem quando os reservatórios para os vírus são humanos ou animais urbanos. Humanos podem ser hospedeiros reservatórios para vírus da febre amarela, dengue e chicungunya (Fig. 52-5). Esses vírus são mantidos pelos mosquitos Aedes em um ciclo silvestre ou florestal, no qual macacos são hospedeiros naturais, e também em um ciclo urbano, no qual os humanos são hospedeiros. A. aegypti, um vetor para esses vírus, é um mosquito domiciliar. Procria em poças de água, esgotos a céu aberto e outros acúmulos de água nas cidades. Os vírus da encefalite de St. Louis e o WNV são mantidos no ambiente urbano porque os seus vetores, mosquitos Culex, reproduzem-se em água parada, incluindo pântanos e esgotos, e seu grupo de reservatórios inclui pássaros comuns da cidade (p. ex., gralhas). Um grande número de infecções não aparentes acompanha a incidência ou o surto de encefalite por arbovírus.

Síndromes Clínicas

Mais humanos são infectados por alfavírus e flavivírus do que os que apresentam sintomas característicos ou significativos. A incidência de doença por arbovírus é esporádica. As infecções por alfavírus são geralmente assintomáticas ou causam doença de baixo grau, como sintomas de gripe (calafrios, febre, exantema e dores) que se correlacionam com a infecção sistêmica durante a viremia inicial. As infecções por EEEV, WEEV e o vírus da encefalite equina da Venezuela (VEEV) podem progredir para encefalite em humanos. Os vírus da encefalite equina são em geral um problema maior para a criação desses animais do que para os humanos. Um humano infectado pode ter febre, cefaleia e diminuição da consciência 3-10 dias após a infecção. Diferentemente da encefalite pelo vírus do herpes simples, a doença costuma resolver sem sequelas significativas, mas existe a possibilidade de paralisia, incapacidade mental, convulsões e morte. O nome chicungunya (do idioma suaíli, "aquele que enverga") refere-se à artrite deformante associada com doença grave causada pela infecção por esses vírus. Tal como o vírus da dengue, o vírus chicungunya é transmitido por A. aegypti, mas um vírus mutante desenvolvido recentemente pode ser transmitido por A. albopictus (o mosquito tigre asiático). A incidência de chicungunya aumentou consideravelmente desde 2000. Essa doença é prevalente na África ocidental, ao longo do sudoeste da Ásia até as Filipinas e na América do Sul, e propagou-se para as ilhas do Caribe e Estados Unidos da América por causa do regresso do mosquito *A. aegypti*, o seu vetor.

das infecções por flavivírus é relativamente benigna, mas podem ocorrer meningite asséptica e encefalite ou doença hemorrágica grave. Os vírus que causam encefalite incluem os vírus de St. Louis, do Nilo ocidental, japonês, do Vale Murray e da primavera-verão da Rússia. Sintomas e efeitos são similares aos das encefalites por togavírus. Centenas de milhares de casos de doença viral de encefalite de St. Louis são observados nos Estados Unidos anualmente. Cerca de 20% dos indivíduos infectados com WNV desenvolverão febre do Nilo ocidental, caracterizada por febre, cefaleia, cansaço e dores no corpo, ocasionalmente com exantema no tronco do corpo e linfonodos aumentados, em geral durando apenas poucos dias (Caso Clínico 52-1). Encefalite, meningite ou meningoencefalite acontece em torno de 1% dos indivíduos infectados com WNV. Os indivíduos com idade superior a 50 anos e os imunodeprimidos estão em maior risco de doença grave.

Hirsch e Warner (N Engl J Med 348:2239-2247, 2003) descreveram o caso de uma mulher de Massachusetts de 38 anos, que apresentou cefaleia progressiva, com fotofobia e febre. Como era agosto, ela estava em férias de verão e 10 dias antes (-10) tinha viajado para St. Louis e lá ficara por 8 dias. Enquanto lá esteve, caminhou na floresta e visitou um zoológico. Um dia antes do início dos sintomas (-1), viajou pela orla atlântica e percebeu que tinha sido mordida por mosquitos, além de remover carrapatos de seu cachorro. Quatro dias depois (+4), foi admitida com febre (40° C), calafrios, taquicardia, confusão mental, vertigens e letargia. Embora aparentasse estar alerta, orientada e apenas levemente doente, seu pescoço estava rígido e havia sinal de Kernig. Os sinais de meningite induziram exame do líquido cefalorraquidiano, que continha imunoglobulina (Ig)M para o WNV e baixas titulações para o vírus da encefalite de St. Louis (SLE). Os anticorpos da paciente neutralizaram o WNV, mas não a infecção de culturas de células pelo vírus da SLE, sugerindo que a atividade contra o segundo vírus era decorrente da reação cruzada entre flavivírus. Testes para outros organismos foram negativos. Ela foi tratada empiricamente para meningite e para o vírus do herpes simples (HSV) (aciclovir). O tratamento antibacteriano e anti-HSV para meningite e encefalite foi necessário até que os resultados laboratoriais estivessem disponíveis. No dia 5 após o início, ela se tornou mais letárgica e tinha dificuldade para responder a perguntas. Ressonância magnética (RM) indicou alterações súbitas no cérebro. No dia 6, não conseguia distinguir a mão direita da esquerda, mas a cefaleia diminuiu e ela conseguia responder aos comandos. No dia 7, teve tremor no braço direito, mas o seu estado mental estava melhorando, e no dia 8, estava alerta e lúcida. No dia 9, RM cerebral foi normal; no dia 10, recuperou-se; e no dia 11, teve alta do hospital. A estação do ano, a exposição a insetos e a viagem desta mulher foram sugestivas de várias diferentes doenças de encefalites arbovirais, além da WNV. Os vírus, no diagnóstico diferencial, incluíram encefalite equina do leste, SLE, vírus de Powassan (flavivírus oriundo do carrapato), HSV e WNV. Diferentemente da encefalite pelo HSV, a meningoencefalite pelos flavivírus resolve com sequelas limitadas.

Os vírus hemorrágicos são os vírus da dengue e da febre amarela. O vírus da dengue é o principal problema em todo o mundo, com pelo menos 100 milhões de casos de febre da dengue e 300.000 casos de febre hemorrágica da dengue (DHF, do inglês, dengue hemorrhagic fever) ocorrendo por ano. O vírus e seu vetor estão presentes no centro e no nordeste da América do Sul, e casos têm ocorrido em Porto Rico, Texas e Flórida. A incidência de DHF mais grave quadruplicou desde 1985. A febre da dengue também é conhecida como febre quebra-ossos; os sintomas e sinais consistem em febre alta, cefaleia, exantema e dor lombar e nos ossos que duram de 6-7 dias. Quando confrontada com outra das quatro cepas relacionadas, a dengue também pode causar DHF e síndrome de choque da dengue (DSS, do inglês, dengue shock syndrome). Anticorpos não neutralizantes promovem a captação do vírus pelos macrófagos, fazendo com que as células T de memória se tornem ativadas, liberem citocinas e iniciem a reação inflamatória. Essas reações e o vírus resultam em enfraquecimento e ruptura dos vasos, sangramento interno e perda de plasma, acarretando sintomas de choque e sangramento interno. Em 1981, em Cuba, o vírus dengue-2 infectou uma população previamente exposta ao vírus dengue-1 entre 1977 e 1980, resultando em epidemia com mais de 100.000 casos de DHF/DSS e 168 mortes.

Infecções por **febre amarela** são caracterizadas por doença sistêmica grave, com degeneração de fígado, rins e coração, bem como hemorragia. O envolvimento do fígado causa icterícia, que dá origem ao nome da doença, mas hemorragias gastrointestinais maciças ("vômito negro") também podem ocorrer. A taxa de mortalidade associada com febre amarela durante epidemia é tão alta quanto 50%.

Diagnóstico Laboratorial

A detecção e caracterização dos alfavírus e flavivírus são atualmente realizadas pelo teste de RT-PCR de RNAm viral no sangue ou em outras amostras. Os anticorpos monoclonais contra os vírus individuais tornaram-se uma ferramenta útil para distinguir as espécies e as estirpes individuais de vírus. Os alfavírus e flavivírus podem ser cultivados em ambas as linhas celulares de vertebrados e mosquitos, mas na maioria dos casos são de difícil isolamento. Uma variedade de métodos sorológicos pode ser utilizada para diagnosticar infecções, mas a reatividade cruzada sorológica entre os vírus limita a distinção das espécies virais em muitos casos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não existe tratamento para as doenças causadas pelos arbovírus, a não ser cuidados de suporte. *O meio mais fácil de prevenir a disseminação de qualquer arbovírus é a eliminação de seu vetor e dos territórios de procriação*. Após 1900, quando Walter Reed e seus colegas descobriram que a febre amarela era disseminada pelo *A. aegypti*, o número de casos foi reduzido de 1.400 para nenhum em dois anos, simplesmente por meio do controle da população do mosquito. Muitos departamentos de saúde pública monitoram as populações de pássaros e mosquitos em uma região para pesquisar arbovírus, e periodicamente fazem pulverizações para reduzir a população de mosquitos. Evitar os territórios de procriação de um mosquito vetor também é boa medida preventiva.

Vacina de vírus vivos contra o vírus da febre amarela e vacinas de vírus mortos contra os vírus EEEV, WEEV, e das encefalites japonesa e de primavera-verão russa estão disponíveis. Vacina de vírus vivo da encefalite japonesa é utilizada na China. Essas vacinas são dirigidas às pessoas que trabalham com o vírus ou que estão sob risco de contato. Vacina de vírus vivos contra VEEV está disponível, mas apenas para uso em animais domésticos. Vacina contendo as quatro cepas do vírus da dengue está sendo desenvolvida para assegurar que, aumentando a resposta imune da doença, esta não ocorra em contato posterior. Uma abordagem interessante para a vacina do vírus da dengue consiste em utilizar vírus quiméricos, nos

quais a glicoproteína e outros genes para cada uma das outras estirpes de vírus de dengue são inseridos em um vírus atenuado de dengue 2 ou no vírus da febre amarela 17D.

A vacina para febre amarela é preparada a partir da cepa 17D isolada de um paciente em 1927 e cultivada por longos períodos em macacos, mosquitos, cultura de tecidos embrionários e ovos embrionados. A vacina é administrada por via intradérmica e produz imunidade que dura toda a vida para a febre amarela e, possivelmente, para outros flavivírus com os quais apresente reações cruzadas.

Vírus da Rubéola

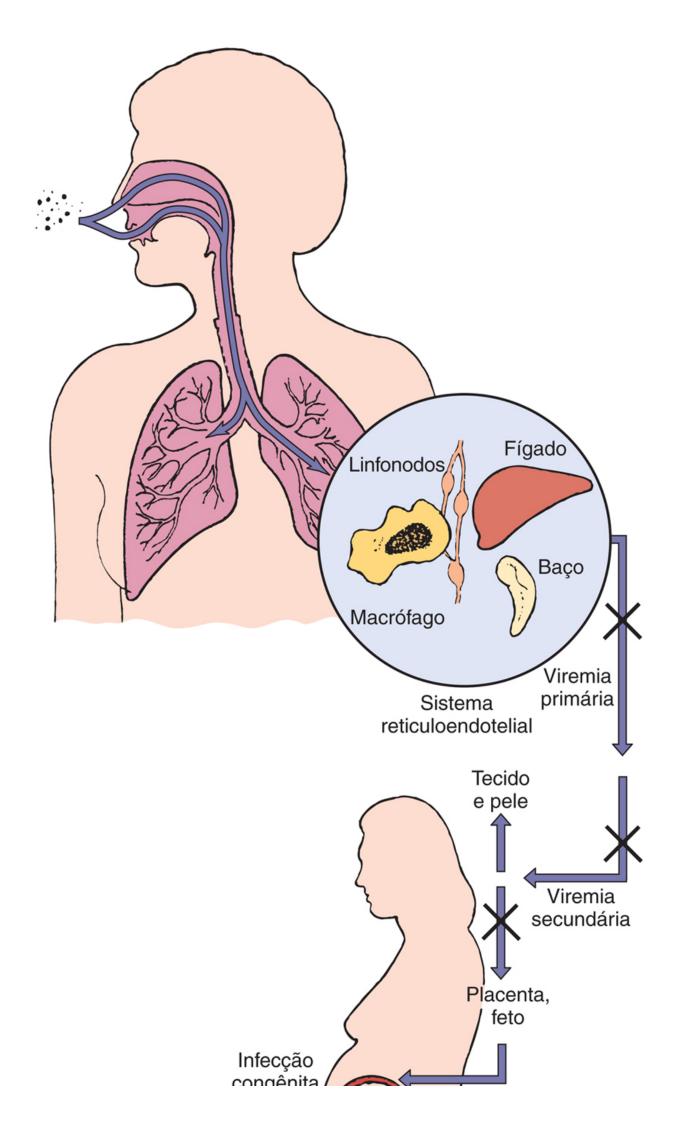
O vírus da rubéola tem as mesmas propriedades estruturais e modos de replicação dos outros togavírus. Contudo, diferentemente dos outros togavírus, a rubéola é um **vírus respiratório** e **não causa efeitos citopatológicos prontamente detectáveis**.

A rubéola é um dos cinco **exantemas clássicos da infância**, juntamente com sarampo, roséola, quinta doença e varicela. Rubéola, que significa "pequeno vermelho" em latim, foi primeiramente distinguida do sarampo e de outros exantemas por médicos alemães; daí o nome comum para a doença, **sarampo alemão**. Em 1941, um astuto oftalmologista australiano, Norman McAlister Gregg, reconheceu que a infecção materna por rubéola era a causa de catarata congênita. A infecção materna por rubéola tem sido, desde então, correlacionada com vários outros **defeitos congênitos graves**. Esse achado deflagrou o desenvolvimento de um programa singular para vacinar crianças, a fim de evitar infecção de mulheres grávidas e neonatos.

Patogênese e Imunidade

O vírus da rubéola não é citolítico, mas a replicação da rubéola evita (num processo conhecido como **interferência heteróloga**) a replicação de picornavírus superinfectantes. Essa propriedade permitiu os primeiros isolamentos do vírus da rubéola em 1962.

A rubéola infecta o trato respiratório superior e se dissemina para os linfonodos locais, o que coincide com período de linfadenopatia (Fig. 52-6). Esse estágio é seguido pelo estabelecimento da viremia, que dissemina o vírus pelo corpo. Ocorre a infecção de outros tecidos e o leve exantema cutâneo característico. O período prodrômico dura cerca de 2 semanas (Fig. 52-7). A pessoa infectada pode disseminar o vírus em gotículas respiratórias durante o período prodrômico e por até 2 semanas após o início do exantema.



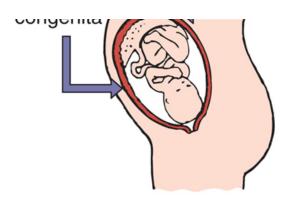


FIGURA 52-6 Disseminação do vírus da rubéola dentro do hospedeiro. A rubéola entra e infecta a nasofaringe e os pulmões e, então, se dissemina para os linfonodos e o sistema monócito-macrófago. A viremia resultante dissemina o vírus para outros tecidos e a pele. Os anticorpos circulantes podem bloquear a transferência do vírus nos pontos indicados (X). Em uma mulher grávida imunologicamente deficiente, o vírus pode infectar a placenta e se disseminar para o feto.

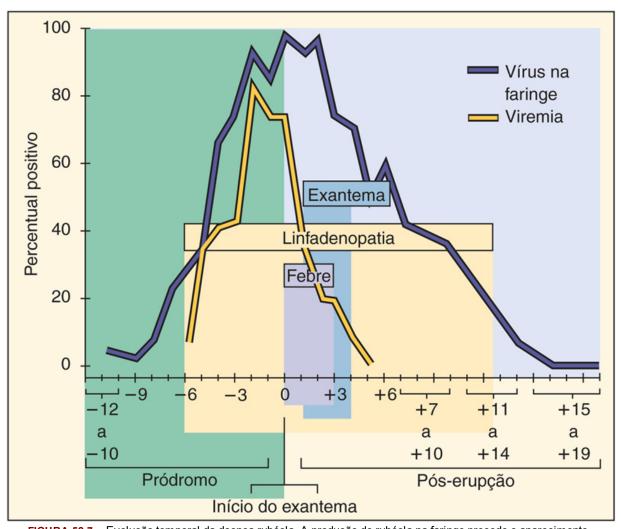


FIGURA 52-7 Evolução temporal da doença rubéola. A produção de rubéola na faringe precede o aparecimento dos sintomas e continua durante o curso da doença. O início da linfadenopatia coincide com a viremia. Febre e exantema ocorrem mais tarde. A pessoa é infecciosa durante o tempo em que o vírus é produzido na faringe. (Modificada de Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA: Vaccines, ed 5, Philadelphia, 2008, Saunders.)

Resposta Imune

É gerado anticorpo após a viremia e seu aparecimento se correlaciona com o surgimento do exantema. O anticorpo limita a disseminação virêmica, mas a imunidade mediada por células desempenha importante papel na resolução da infecção. Existe apenas um sorotipo de rubéola e a infecção natural produz imunidade protetora por toda a vida. Mais importante, o anticorpo sérico em uma mulher grávida evita a disseminação do vírus para o feto. *Complexos imunes provavelmente causam o exantema e a artralgia associados com infecção por rubéola.*

Infecção Congênita

A infecção por rubéola em uma mulher grávida pode resultar em anormalidades congênitas graves na criança. Se a mãe não tem anticorpo, o vírus pode se replicar na placenta e se disseminar para o suprimento sanguíneo fetal e para todo o feto. A rubéola pode se replicar na maioria dos tecidos do feto. O vírus pode não ser citolítico, mas crescimento normal, mitose e estrutura cromossômica das células do feto podem ser alterados pela infecção. As alterações podem acarretar desenvolvimento inapropriado do feto, tamanho pequeno do bebê infectado e **efeitos teratogênicos** associados com infecção congênita por rubéola. A natureza do distúrbio é determinada pelo (1) tecido afetado e (2) o estágio de desenvolvimento prejudicado. Desde a era da vacina, o citomegalovírus substituiu a rubéola como a causa mais comum de defeitos congênitos.

O vírus pode persistir em tecidos, como a lente do olho, por 3-4 anos e pode ser liberado por até um ano após o nascimento. A presença do vírus durante o desenvolvimento da resposta imune do bebê pode até ter efeito de tolerância no sistema, evitando a eliminação efetiva do vírus após o nascimento.

Epidemiologia

Os humanos são os únicos hospedeiros para a rubéola (Quadro 52-4). O vírus é disseminado nas secreções respiratórias e é geralmente adquirido durante a infância. Disseminação do vírus, antes ou na ausência dos sintomas, e condições de concentração de pessoas (p. ex., creches) promovem o contágio.



Quadro 52-4 Epidemiologia do Vírus da Rubéola

Doença/Fatores Virais

Rubéola infecta apenas seres humanos. O vírus pode causar doença assintomática. Existe um único sorotipo.

Transmissão

Via respiratória

Quem Está sob Risco?

Crianças: doença exantematosa leve

Adultos: doença mais grave, com artrite e artralgia

Fetos < 20 semanas: defeitos congênitos

Meios de Controle

Vacina de vírus vivos atenuados é administrada como parte da vacina sarampo-caxumba-rubéola (MMR)

Aproximadamente 20% das mulheres na idade de procriação escapam da infecção durante a infância e estão suscetíveis à infecção, a menos que sejam vacinadas. Programas em muitos estados dos Estados Unidos testam mulheres grávidas para anticorpos contra a rubéola.

Antes do desenvolvimento e uso da vacina da rubéola, casos de rubéola em crianças na escola eram reportados a cada primavera, e as principais epidemias ocorreram em intervalos regulares de 6-9 anos. A gravidade da epidemia de 1964-1965, nos Estados Unidos, está mostrada na Tabela 52-3. Durante a epidemia ocorreu rubéola congênita em até 1% de todas as crianças nascidas em cidades como Filadélfia. Os programas de imunização tiveram sucesso em eliminar a infecção endêmica pelo vírus da rubéola nos Estados Unidos.

Morbidade Estimada Associada com Epidemia de Rubéola de 1964-1965 nos Estados Unidos

Eventos Clínicos	Número de Afetados
Casos de rubéola	12.500.000
Artrite-artralgia	159.375
Encefalite	2.084
Óbitos	
Óbitos neonatais acima da média	2.100
Outros óbitos	60
Total de óbitos	2.160
Morte fetal acima da média	6.250
Síndrome da rubéola congênita	
Crianças surdas	8.055
Crianças surdas/cegas	3.580
Crianças com retardo mental	1.790
Outros sintomas da síndrome da rubéola congênita	6.575
Total da síndrome da rubéola congênita	20.000
Abortos terapêuticos	5.000

De National Communicable Disease Center: Rubella surveillance, Report No. 1, Washington, DC, June 1969, U.S. Department of Hea Ith, Education, and Welfare.

Síndromes Clínicas

A doença da rubéola é normalmente benigna em crianças. Após um período de incubação de 14-21 dias, os sintomas na criança consistem em **exantema macular** ou **maculopapular**, com 3 dias de duração e glândulas edemaciadas (Fig. 52-8).A infecção em adultos pode ser mais grave e inclui problemas como dor nos ossos e articulações (artralgia e artrite) e raramente trombocitopenia ou encefalopatia pós-infecciosa. Efeitos imunopatogenéticos resultantes da resposta imunomediada por célula e reações de hipersensibilidade são as principais causas das formas mais graves de rubéola em adultos.

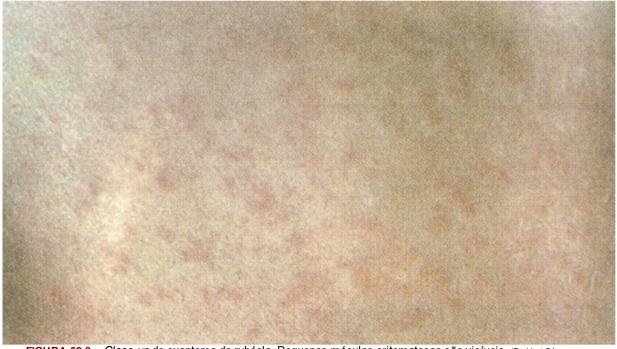


FIGURA 52-8 Close-up do exantema da rubéola. Pequenas máculas eritematosas são visíveis. (De Hart CA, Broadwell RL: A color atlas of pediatric infectious disease, London, 1992, Wolfe.)

Doença congênita é o resultado mais grave da infecção por rubéola. O feto está em maior risco até a 20ª semana de gestação. A imunidade materna ao vírus resultante da exposição prévia ou da vacinação previne a disseminação do vírus para o feto. As manifestações mais comuns da infecção de rubéola congênita são catarata, retardo mental, anomalias cardíacas e surdez (Quadros 52-5 e 52-6; Tabela 52-3). A mortalidade *in utero* e no primeiro ano após o nascimento é alta para os bebês afetados.



Quadro 52-5 Achados Clínicos Proeminentes na Síndrome da Rubéola

Congênita

Retardo mental

Catarata e outros defeitos oculares Defeitos cardíacos Surdez Retardo no crescimento intrauterino Falha no crescimento Mortalidade no primeiro ano Microcefalia



Quadro 52-6 Resumos Clínicos

Encefalite do Nilo ocidental: Durante o mês de agosto, um homem de 70 anos, de uma área pantanosa da Louisiana, desenvolve febre, cefaleia, fraqueza muscular, náuseas e vômitos. Apresenta dificuldade em responder perguntas. Houve progressão para o coma. A ressonância magnética não mostra área de localização específica das lesões (diferentemente da encefalite pelo vírus do herpes simples). Sua doença progride para insuficiência respiratória e morte. Sua sobrinha de 25 anos, que era sua vizinha de porta, reclama de início súbito de febre (39° C), cefaleia e mialgias, com náuseas e vômitos nos últimos 4 dias. (Ver www.postgradmed.com/issues/2003/07_03/gelfand.shtml.)

Febre amarela: Um homem de 42 anos teve febre (39,5° C), cefaleia, vômitos e dor nas costas, sintomas que começaram 3 dias após seu retorno de viagem para a América Central. Ele parecia normal por curto período de tempo, mas então suas gengivas começaram a sangrar, ele apresentou sangue na urina, vomitou sangue e desenvolveu petéquias, icterícia e pulso fraco e lento. Ele começou a melhorar 10 dias após início da doença.

Rubéola: Uma menina de 6 anos, vinda da Romênia, desenvolveu leve exantema na face, acompanhado por febre leve e linfadenopatia. Nos 3 dias seguintes, o exantema progrediu para outras partes do corpo. Ela não tinha história de imunização contra rubéola.

Diagnóstico Laboratorial

O isolamento do vírus da rubéola é difícil e raramente tentado. Quando o isolamento do vírus é necessário, o vírus geralmente é obtido na urina. A presença do vírus pode ser detectada por meio do RNA viral por RT-PCR. O diagnóstico é usualmente confirmado pela presença de IgM específica antirrubéola. Anticorpos contra a rubéola são pesquisados no início da gestação para determinar o estado de imunização da mulher; seria ideal que esse teste fosse obrigatório.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não há nenhum tratamento disponível para a rubéola. O melhor método para prevenir a rubéola é a vacinação com vacina de uma cepa de vírus RA27/3 vivos adaptados ao frio (Fig. 52-9). A vacina de vírus vivos da rubéola costuma ser administrada junto com as vacinas de sarampo e caxumba (vacina MMR) após os 12 meses de idade. A vacina tripla é incluída numa rotina de bons cuidados com o bebê. A vacinação promove imunidade humoral e celular.

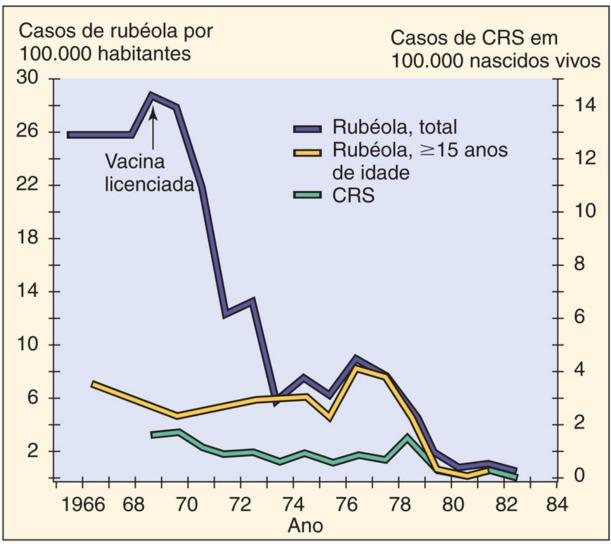


FIGURA 52-9 Efeito da vacinação contra o vírus da rubéola na incidência da rubéola e da síndrome da rubéola congênita (CRS). (Modificada de Williams MN, Preblud SR: Current trends: rubella and congenital rubella—United States, 1983, MMWR Morb Mortal Wkly Rep 33:237–247, 1984.)

A razão primária para o programa de vacinação da rubéola é prevenir a infecção congênita pela diminuição do número de pessoas suscetíveis na população, especialmente crianças. Como resultado, existem poucas mães soronegativas e chance menor de que sejam expostas ao vírus pelo contato com crianças infecciosas. Como há apenas um sorotipo de rubéola e os humanos são os únicos reservatórios, a vacinação de grande proporção da população pode reduzir significativamente a probabilidade de exposição ao vírus.

Referências Bibliográficas

Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, et al. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Annu Rev Microbiol*. 1990;44:649–688. Chambers TJ, Monath TP. *The flaviviruses: detection, diagnosis, and vaccine development, vol* 61; *The flaviviruses: pathogenesis and immunity, vol* 60. *In Adv Virus Res*. San Diego: Elsevier Academic; 2003.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Fernandez-Garcia MD, Mazzon M, Jacobs M, et al. Pathogenesis of flavivirus infections: using and abusing the host cell. *Cell Host Microbe*. 2009;5:318–328.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Gelfand MS. West Nile virus infection. What you need to know about this emerging threat. Postgrad Med. 2003;114:31–38.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious diseases. ed 3 Philadelphia: Saunders; 2004.

Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses. Lancet. 2008;371:500-509.

Guabiraba R, Ryffel B. Dengue virus infection: current concepts in immune mechanisms and lessons from murine models. *Immunology*. 2014;141:143–156.

Johnson RT. Viral infections of the nervous system. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Koblet H. The "merry-go-round": alphaviruses between vertebrate and invertebrate cells. Adv Virus Res. 1990;38:343-403.

Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, et al. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell*. 2002;108:717–725.

Mackenzie JS, Barrett ADT, Deubel V. Japanese encephalitis and West Nile viruses, Curr Top Microbiol Immunol (vol 267). Berlin: Springer-Verlag; 2002.

Monath TP. Yellow fever vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein WA, eds. Vaccines. ed 4 Philadelphia: Saunders; 2004.

Mukhopadhyay S, Kim BS, Chipman PR, et al. Structure of West Nile virus. Science. 2003;302:248.

Nash D, Mostashari F, Fine A, et al. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *N Engl J Med*. 2001;344:1807–1814.

Plotkin SA, Reef S. Rubella vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein WA, eds. Vaccines. ed 4 Philadelphia: Saunders; 2004.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Tsai TF. Arboviral infections in the United States. Infect Dis Clin North Am. 1991;5:73-102.

Websites

Centers for Disease Control and Prevention: Arboviruses. www.cdc.gov/ncezid/dvbd/. Acessado em 13 de maio de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Dengue. www.cdc.gov/dengue/. Acessado em 22 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: West Nile virus. www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/index.htm. Acessado em 22 de abril de 2015.

Dengue map. www.healthmap.org/dengue/index.php. Acessado em 22 de abril de 2015.

CAPÍTULO 53

Bunyaviridae e Arenaviridae

Um homem de 50 anos visitou os familiares na Libéria e se hospedou em uma casa infestada de roedores. Ele apresentou sintomas graves semelhantes aos de influenza, dor de garganta e olhos avermelhados, sendo tratado com amoxicilina e cloroquina. Seus sintomas pioraram com elevação da febre, dor de cabeça severa e aumento dos linfonodos, amígdalas e baço. Ele começou a tossir sangue e evoluiu para choque e morte.

- 1. Como este indivíduo se infectou com o vírus da febre de Lassa?
- 2. Qual a característica típica dos arenavírus?
- 3. Como esses vírus se assemelham aos buniavírus? Quais as diferenças?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Buniavírus

Palavras-gatilho

Arbovírus: mosquito, encefalite

Hantavírus: roedores, doença hemorrágica

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho médio, com envelope, genoma de RNA (-) segmentado
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replicando-se no citoplasma
- Os anticorpos podem bloquear a doença
- O vírus propaga-se por via sanguínea até os tecidos, neurônios e cérebro
- Pródromo de sintomas semelhantes aos da gripe devido à resposta do interferon e das citocinas
- Encefalite: La Crosse, encefalite da Califórnia
- Hantavírus: síndrome pulmonar

Epidemiologia

- Vírus da encefalite: zoonose, reservatório nas aves, o vetor é o mosquito Culex
- Hantavírus: inalação de aerossóis a partir de urina ou fezes de roedores

Diagnóstico

• RT-PCR, ELISA

Tratamento, Prevenção e Controle

- Arbovírus: controle dos mosquitos
- Hantavírus: controle dos roedores

Arenavírus

Palavras-gatilho

Roedores, febre de Lassa: doença hemorrágica, vírus da coriomeningite linfocítica: LCMV, meningite

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho médio, com envelope, genoma de RNA (-) segmentado
- Codifica a RNA polimerase RNA-dependente, replicando-se no citoplasma
- Os anticorpos podem bloquear a doença
- O vírus propaga-se por via sanguínea até os tecidos, neurônios e cérebro
- Pródromo de sintomas semelhantes aos da gripe devido à resposta do interferon e das citocinas
- Coriomeningite linfocítica (LCMV): meningite
- Febre de Lassa: febre hemorrágica

Epidemiologia

- Inalação de aerossóis a partir de urina e fezes de roedores
- LCMV: por todo o mundo
- Febre de Lassa: África

Diagnóstico

• RT-PCR, ELISA

Tratamento, Prevenção e Controle

• Controle de roedores

As famílias virais Bunyaviridae e Arenaviridae compartilham várias similaridades. Os vírus dessas famílias são vírus envelopados de ácido ribonucleico (RNA) de fita negativa, com modos de replicação semelhantes. Ambas são zoonoses; a maior parte da família Bunyaviridae é composta também de arbovírus, mas a família Arenaviridae não. Muitos dos vírus dessas famílias causam encefalite ou doença hemorrágica.

Bunyaviridae

A família Bunyaviridae constitui um "supergrupo" de pelo menos **200 vírus envelopados**, **segmentados**, **de RNA de fita negativa**. O supergrupo de vírus mamíferos é ainda dividido em gêneros com base em características estruturais e bioquímicas: *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus* e *Hantavirus* (Tabela 53-1). A maioria da família Bunyaviridae é composta de **arbovírus** (arthropod-borne — transmitidos por artrópodes) que que são disseminados por mosquitos, carrapatos ou moscas e endêmicos no meio ambiente do vetor. Os **hantavírus** são exceção: são carreados por **roedores**. Novos vírus estão ainda a ser descobertos, incluindo os flebovírus Heartland do carrapato nos Estados Unidos em 2012. Em 2011, foi descoberto na China o vírus da síndrome da trombocitopenia com febre severa (SFTSV), transmitido por carrapatos.



Tabela 53-1

Gêneros Importantes da Família Bunyaviridae*

Gênero	Membros	Inseto Vetor	Condições Patológicas	Hospedeiros Vertebrados
Bunyavirus	Vírus Bunyamwera, vírus da encefalite da Califórnia, vírus La Crosse, vírus Oropouche; 150 membros	Mosquito	Doença febril, encefalite, exantema	Roedores, mamíferos pequenos, primatas, marsupiais, aves
Phlebovirus	Vírus da febre de Rift Valley, vírus da febre arenosa; vírus Heartland; 38 membros	Mosca, carrapato	Febre do mosquito-pólvora, febre hemorrágica, encefalite, conjuntivite, miosite	Ovelhas, gado bovino, animais domésticos
Nairovirus	Vírus da febre hemorrágica Crimeia-Congo; 6 membros	Carrapato	Febre hemorrágica	Lebres, gado bovino, cabras, aves marinhas
Uukuivirus	Vírus Uukuniemi; 7 membros	Carrapato	_	Aves
Hantavirus	Vírus Hantaan	Nenhum	Febre hemorrágica com síndrome renal, síndrome da angústia respiratória do adulto	Roedores
	Sin Nombre	Nenhum	Síndrome pulmonar do hantavírus, choque, edema pulmonar	Rato-veadeiro

 $[^]st$ Vírus adicionais possuem várias propriedades comuns a Bunyaviridae, mas ainda não foram classificados.

Estrutura

Os buniavírus são partículas aproximadamente esféricas de 90 a 120 nm de diâmetro (Quadro 53-1). O envelope do vírus contém duas glicoproteínas (G1 e G2) e envolve três RNAs singulares de fita negativa, o RNA grande (L — *large*), o médio (M) e o pequeno (S — *small*). Os RNAs se associam a proteínas para formar nucleocapsídeos (Tabela 53-2). Os segmentos de genoma para os vírus de La Crosse e outros vírus do grupo relacionado com vírus da encefalite da Califórnia formam círculos. Os nucleocapsídeos incluem RNA polimerase RNA-dependente (proteína L) e duas proteínas não estruturais (NS_s, NS_m) (Fig. 53-1). Diferentemente de outros vírus RNA de cadeia negativa, os Bunyaviridae **não têm uma matriz de proteína**. Os gêneros de Bunyaviridae são distinguidos por diferenças: em (1) número e tamanhos das proteínas dos vírions; (2) comprimentos das fitas L, M e S do genoma; e (3) como são transcritos.



Quadro 53-1 Características Específicas dos Buniavírus

Existem pelo menos 200 vírus relacionados nos cinco gêneros que compartilham morfologias comuns e componentes básicos.

- O vírion é envelopado contendo três (L, M, S) nucleocapsídeos RNA negativos, mas sem proteínas de matriz.
- O vírus se replica no citoplasma.
- O vírus pode infectar humanos, outros animais e artrópodes.
- O vírus de um artrópode pode ser transmitido para seus ovos.

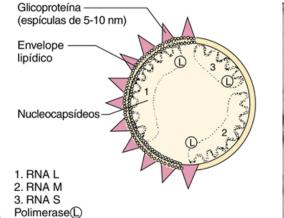


Tabela 53-2

Genomas e Proteínas do Vírus da Encefalite da Califórnia

Genoma*	Proteínas	
L	RNA polimerase, 170 kDa	
M	Glicoproteína G1, 75 kDa	
	Glicoproteína G2, 65 kDa	
	Proteína (não estrutural) NS _m , 15-17 kDa	
S	Proteína (não estrutural) N, 25 kDa	
	Proteína (não estrutural) NS _S , 10 kDa	

^{*} RNA de fita com sentido negativo.



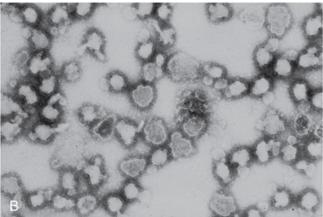


FIGURA 53-1 A, Modelo de partícula do buniavírus. B, Micrografia eletrônica da variante de La Crosse do buniavírus. Observem-se as espículas de proteínas na superfície do envelope do vírion. RNA, Ácido ribonucleico. (A, Modificado de Fraenkel-Conrat H, Wagner RR: Comprehensive virology, vol 14, New York, 1979, Plenum.B, Cortesia dos Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)

Replicação

Bunyaviridae replicam-se da mesma maneira que outros vírus envelopados de fita negativa. Para a maioria de Bunyaviridae, a glicoproteína G1 interage com integrinas β na superfície da célula e o vírus é internalizado por endocitose. Após a fusão do envelope com as membranas endossômicas na acidificação da vesícula, o nucleocapsídeo é liberado no citoplasma e começa a síntese de RNA mensageiro (RNAm) e proteínas. De forma semelhante ao vírus da influenza, os buniavírus roubam a porção 5′-cap dos RNAm para priorizar a síntese de RNAm virais; mas, diferente do vírus influenza, esse processo ocorre no citoplasma.

A fita M codifica a proteína não estrutural NS_m e as proteínas G1 (fixação viral) e G2, e a fita L codifica a proteína L (polimerase) (Tabela 53-2). A fita S de RNA codifica duas proteínas não estruturais, N e NS_s. No que diz respeito ao grupo *Phlebovirus*, a cadeia S possui polaridade com duplo sentido (*ambisense*), de tal modo que um RNAm é transcrito a partir do genoma e o outro a partir do molde de RNA(+) para a replicação.

As glicoproteínas são sintetizadas e glicosiladas no retículo endoplasmático, sendo transferidas para o aparelho de Golgi, mas não translocadas para a membrana plasmática. Os vírions são montados por brotamento no interior do aparelho de Golgi e são liberados por lise celular ou exocitose.

Patogênese

A maioria dos vírus da família Bunyaviridae é arbovírus e possui os mesmos mecanismos de patogenia dos togavírus e dos flavivírus (Quadro 53-2). Por exemplo, os vírus são disseminados por um vetor artrópode e injetados na corrente sanguínea para iniciar uma viremia. A progressão para viremia secundária após esse estágio e a posterior disseminação do vírus podem direcioná-lo para pontos-alvo, como sistema nervoso central, fígado, rins e endotélio vascular para causar a doença. Muitos buniavírus causam encefalite; outros causam necrose hepática ou doença hemorrágica (p. ex., febre hemorrágica da Crimeia-Congo e doença hemorrágica pelo vírus Hantaan) de formas semelhantes aos togavírus e flavivírus. Nessa última infecção, ocorre frequentemente necrose hemorrágica do rim. Semelhantemente ao togavírus, ao flavivírus e ao arenavírus, os buniavírus são bons indutores do interferon tipo 1. A doença causada pelos buniavírus é uma combinação da patogênese imune e viral.



Quadro 53-2 Mecanismos Patológicos dos Buniavírus

O vírus é adquirido pela picada de um artrópode (p. ex., mosquito).

O hantavírus é adquirido pelo contato com a urina de roedores.

A viremia inicial pode causar sintomas semelhantes aos da gripe.

O estabelecimento de viremia secundária pode permitir o acesso do vírus aos tecidos-alvo específicos que definem a doença, incluindo o sistema nervoso central e o endotélio vascular.

O anticorpo é importante no controle da viremia; interferon e imunidade mediada por células podem prevenir o desenvolvimento da infecção.

Diferentemente de outros buniavírus, os roedores são reservatórios e vetores para hantavírus, e os humanos adquirem o vírus por meio da respiração de aerossóis contaminados por urina infectada. O vírus inicia a infecção e permanece no pulmão, causando destruição hemorrágica do tecido e doença pulmonar letal.

Epidemiologia

Muitos buniavírus são transmitidos por mosquitos, carrapatos infectados, ou moscas *Phlebotomus* para roedores, aves e animais maiores (Quadro 53-3). Os animais se tornam então **reservatórios** para os vírus, continuando o ciclo de infecção. Os humanos são infectados quando entram no ambiente do inseto vetor (Fig. 53-2), mas são geralmente hospedeiros terminais. A transmissão ocorre durante o verão, mas, ao contrário de outros arbovírus, muitos dos buniavírus podem sobreviver durante o inverno nos ovos dos mosquitos e permanecer na localidade.



Quadro 53-3 Epidemiologia das Infecções por Buniavírus

Doença/Fatores Virais

O vírus é capaz de replicar nas células de mamíferos e artrópodes.

O vírus é capaz de passar pelo ovário e infectar os ovos dos artrópodes, permitindo que o vírus sobreviva durante o inverno.

Transmissão

Via artrópodes por picadas. Grupo da encefalite da Califórnia: mosquito Aedes.

Mosquitos Aedes se alimentam durante o dia e vivem em florestas

Mosquitos Aedes depositam ovos em pequenas poças de água aprisionadas em lugares como árvores e pneus.

Hantavírus é transmitido por aerossóis de urina de roedores e pelo contato com os roedores infectados.

Quem Está sob Risco?

Pessoas no habitat do vetor artrópode.

Grupo da encefalite da Califórnia: pessoas em acampamentos, guardas florestais, lenhadores.

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

A incidência da doença se correlaciona com a distribuição do vetor.

A doença é mais comum no verão.

Modos de Controle

Eliminação do vetor ou de seu habitat.

Evitar o habitat do vetor.

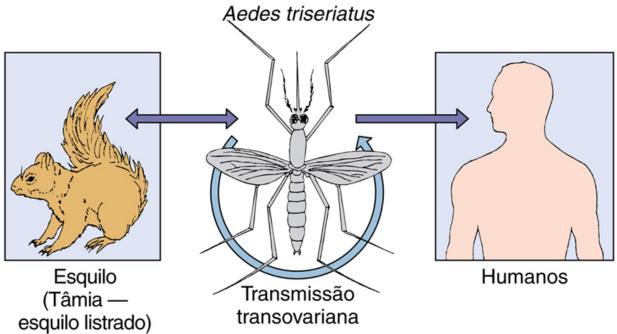


FIGURA 53-2 Transmissão do vírus da encefalite de La Crosse (grupo de vírus da encefalite da Califórnia).

Muitos dos membros dessa família de vírus são encontrados na América do Sul, no sudeste da Europa, no sudeste da Ásia e na África e têm os nomes exóticos de seus nichos ecológicos. Os vírus do **grupo de vírus da encefalite da Califórnia** (p. ex., vírus La Crosse) são disseminados por mosquitos encontrados nas florestas da América do Norte (Fig. 53-3). Até 150 casos de encefalite ocorrem durante o verão a cada ano nos Estados Unidos, mas a maioria das infecções é assintomática. Esses vírus são disseminados principalmente por *Aedes triseriatus*, mosquito que se prolifera na água acumulada em buracos de árvores e em pneus descartados.

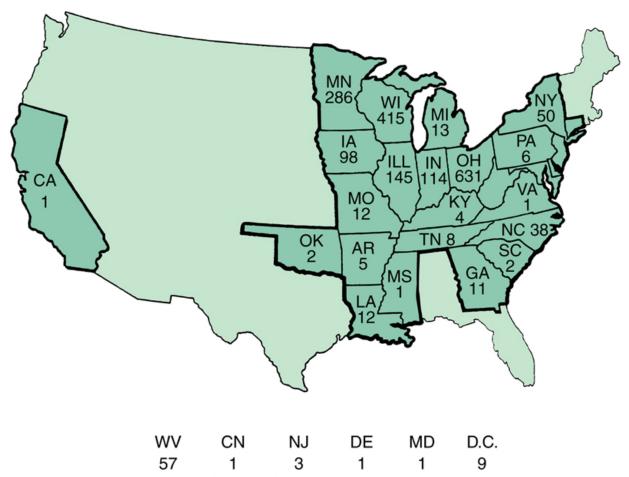


FIGURA 53-3 Distribuição da encefalite da Califórnia, de 1964 a 2010. (Cortesia dos Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta.)

Os hantavírus não têm um vetor artrópode, mas são mantidos em uma espécie de roedor específica para cada vírus. Os humanos são infectados por contato direto com roedores ou pela inalação de aerossóis de urina de roedores. Em maio de 1993, um surto de **síndrome pulmonar por hantavírus** ocorreu na área Four Corners no estado do Novo México. O surto é atribuído à elevação do contato com o vetor rato-veadeiro durante estação de chuvas extraordinariamente intensas, maior disponibilidade de alimentos e ao aumento na população de roedores. Os vírus da subfamília Sin Nombre foram isolados em vítimas e roedores. Desde esse episódio, vírus dessa subfamília têm sido associados com surtos de doença do trato respiratório no leste e no oeste dos Estados Unidos e nas Américas Central e do Sul.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 53-1)

Os vírus Bunyaviridae, mesmo aqueles que podem causar doenças graves, geralmente causam uma doença febril inespecífica, relativamente ligeira, semelhante à gripe, relacionada com a viremia (Tabela 53-1). Normalmente, a doença é indistinguível de doenças provocadas por outros vírus. O período de incubação para essas doenças é de aproximadamente 48 horas, e as febres costumam durar três dias.



Caso Clínico 53-1 Hantavírus na Virgínia

Os Centers for Disease Control and Prevention (*Morb Mortal Wkly Rep* 53:1086-1089, 2004) relataram um caso de hantavírus em um estudante de ciências da vida selvagem de 32 anos. O paciente visitou o departamento de emergência em Blacksburg, Virgínia, após apresentar febre, tosse e "ferida no tórax". O estudante vinha capturando, manuseando e estudando camundongos durante todo o mês anterior aos sintomas. Nem ele nem seus colegas usavam luvas enquanto manuseavam os camundongos e seus excrementos. Eles também não lavavam as mãos antes de comer e tinham numerosas mordidas de camundongos em suas mãos. Ele teve febre de 39,3° C e função pulmonar normal, mas a radiografia de tórax indicou leve pneumonia do lado direito. O estudante começou a vomitar durante o atendimento e foi internado. A pneumonia progrediu e ele se tornou mais hipóxico, requerendo entubação e ventilação mecânica. No dia seguinte, recebeu proteína C ativada para prevenir coagulação intravascular disseminada. O paciente continuou a piorar e morreu no terceiro dia após a hospitalização. Amostras de soro continham anticorpos imunoglobulina (Ig)M e IgG e RNA genômico (determinado por RT-PCR) para hantavírus, e antígenos virais estavam presentes no baço. Embora o hantavírus tenha recebido grande notoriedade com o surto do vírus Sin Nombre no sudoeste dos Estados Unidos em 1993, ele pode ocorrer em qualquer local onde pessoas entrem em contato com urina e fezes de roedores. Foram relatados 31 casos nos Estados Unidos.

Enfermidades com **encefalite** (p. ex., vírus La Crosse) têm início súbito após período de incubação de cerca de uma semana, e os sintomas consistem em febre, cefaleia, letargia e vômitos. Ocorrem convulsões em 50% dos pacientes com encefalite, em geral no início da enfermidade. Pode haver também sinais de meningite. A enfermidade dura 10-14 dias. Ocorre morte em menos de 1% dos pacientes, mas podem ocorrer sequelas como convulsões em até 20%.

Febres hemorrágicas, como a febre de Rift Valley, são caracterizadas por petéquias hemorrágicas, equimoses, epistaxe, hematêmese, melena e sangramento das gengivas. Há morte em cerca de metade dos pacientes com fenômenos hemorrágicos. A síndrome pulmonar por hantavírus é uma doença terrível, manifestando-se inicialmente por febre e dores musculares, mas esses sintomas são seguidos rapidamente por edema pulmonar intersticial, insuficiência respiratória e morte dentro de alguns dias.

Diagnóstico Laboratorial

A detecção de RNA viral por reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR) se tornou o método aceito para detectar e identificar buniavírus. Os hantavírus Sin Nombre e Convict Creek foram identificados por meio do uso do teste de RT-PCR, utilizando-se *primers* (iniciadores) específicos para hantavírus.

Exames sorológicos podem ser realizados para confirmar diagnóstico de infecção por buniavírus. Imunoensaios enzimáticos (ELISA) podem detectar o antígeno em espécimes clínicos de pacientes com viremia intensa (p. ex., febre do Vale Rift, febre hemorrágica com síndrome renal, febre hemorrágica de Crimeia-Congo) ou mesmo em mosquitos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Nenhum tratamento específico para infecções de Bunyaviridae está disponível. A doença humana é prevenida pela interrupção do contato entre humanos e o vetor, seja ele artrópode ou mamífero. Vetores artrópodes são controlados por (1) eliminação das condições de crescimento para o vetor, (2) pulverização com inseticidas, (3) instalação de redes ou telas em janelas e portas, (4) uso de roupas protetoras, e (5) controle da infestação de carrapatos em animais. O controle dos roedores minimiza a transmissão de muitos vírus, especialmente os hantavírus.

Arenavírus

Os arenavírus incluem os **vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV,** *lymphocytic choriomeningitis***)** e vírus de **febre hemorrágica**, como os vírus de **Lassa**, **Junin** e **Machupo**. Esses vírus causam infecções persistentes em roedores específicos e podem ser transmitidos para humanos como **zoonoses**.

Estrutura e Replicação

Os arenavírus são vistos em micrografias eletrônicas como vírus envelopados, pleomórficos (120 nm de diâmetro) que têm aspecto arenoso (o nome vem da palavra grega arenosa) por causa dos ribossomos dos vírions (Quadro 53-4). Ainda que funcionais, os ribossomos não parecem servir para um propósito. Vírions contêm um nucleocapsídeo com dois círculos de RNA de fita simples (S, 3.400 nucleotídeos; L, 7.200 nucleotídeos) e uma transcriptase. A fita L é um RNA de sentido negativo e codifica a polimerase. A fita S codifica a nucleoproteína (nucleoproteína N) e as glicoproteínas, mas possui leitura em ambos os sentidos (ambissenso). Enquanto o RNAm para a proteína N é transcrito diretamente a partir da fita ambissenso S, o RNAm para a glicoproteína é transcrito a partir de um molde de comprimento inteiro do genoma. Como nos togavírus, as glicoproteínas são produzidas como proteínas tardias após a replicação do genoma. Os arenavírus replicam-se no citoplasma e adquirem seu envelope por brotamento a partir da membrana plasmática da célula do hospedeiro.



Quadro 53-4 Características dos Arenavírus

Os vírus têm vírion **envelopado** com dois segmentos de genoma **RNA circulares com sentido negativo** (L, S). O vírion parece **arenoso por causa dos ribossomos**.

O segmento S do genoma é ambissenso.

Infecções por arenavírus são zoonoses, estabelecendo infecções persistentes em roedores.

A patogênese das infecções por arenavírus é amplamente atribuída à imunopatogênese.

Arenavírus facilmente causam infecções persistentes. Isto pode resultar da transcrição ineficiente dos genes de glicoproteínas e montagem deficiente do vírion.

Patogênese

Os arenavírus são capazes de infectar macrófagos e possivelmente induzem a liberação de interferon, acarretando danos vasculares e celulares. Efeitos imunopatológicos induzidos por células T exacerbam significativamente a destruição tecidual. O período de incubação para infecções dos arenavírus varia de 10 a 14 dias.

Epidemiologia

Muitos arenavírus, exceto o vírus que causa a LCM, são encontrados nos trópicos da África e da América do Sul. Os arenavírus, como os hantavírus, infectam roedores específicos e são endêmicos nos *habitats* dos roedores. Infecção assintomática crônica é comum nesses animais e ocasiona longos períodos de excreção viral em saliva, urina e fezes. Os humanos podem se infectar por meio da inalação de aerossóis, do consumo de alimentos contaminados ou do contato com fômites. Mordidas não são mecanismos comuns de transmissão.

O vírus que causa a LCM infecta hamsters e camundongos domésticos (Mus musculus). Esse vírus foi encontrado em 20% dos camundongos em Washington, DC. O vírus da febre de Lassa infecta Mastomys natalensis, um roedor africano. O vírus da febre de Lassa é disseminado de homem para homem pelo contato com secreções infectadas ou líquidos corporais, mas os vírus que provocam LCM e outras febres hemorrágicas são disseminados raramente, se forem, por essa via.

Em 1999 e 2000, foram relatados três casos de doença hemorrágica fatal na Califórnia, causados pelo arenavírus *Whitewater Arroyo*. Esse vírus é encontrado normalmente no roedor *Neotoma albigula*, por isso sua ocorrência em humanos constitui doença emergente. A associação com a doença foi feita por teste especial de RT-PCR.

Síndromes Clínicas (Quadro 53-5)

Coriomeningite Linfocítica

O nome **vírus da coriomeningite linfocítica** sugere que a meningite é um evento clínico típico, mas, na verdade, a LCM usualmente ocasiona enfermidade febril com mialgia semelhante à gripe. Somente cerca de 10% de pessoas infectadas progridem para uma infecção do sistema nervoso central. A enfermidade meníngea, se ocorrer, começará 10 dias após a fase inicial da doença, com recuperação completa. Infiltrados mononucleares perivasculares podem ser vistos em neurônios de todas as áreas do cérebro e nas meninges do paciente afetado.



Quadro 53-5 Resumo Clínico

Febre de Lassa: Aproximadamente 10 dias após retornar de uma viagem para visitar a família na Nigéria, um homem de 47 anos desenvolveu sintomas semelhantes aos da gripe, com febre mais alta do que o esperado e mal-estar. A

doença piorou progressivamente e, após 3 dias, o paciente desenvolveu dor abdominal, náuseas, vômitos, diarreia, faringite, sangramento das gengivas e começou a vomitar sangue. Ele entrou em choque e morreu.

Febre de Lassa e Outras Febres Hemorrágicas

A febre de Lassa, que é endêmica no oeste da África, é a mais conhecida das febres hemorrágicas causadas por arenavírus. Outros agentes, porém, como os vírus Junin e Machupo, provocam síndromes similares nos habitantes da Argentina e da Bolívia, respectivamente.

A doença clínica é caracterizada por febre, coagulopatia, petéquias e hemorragia visceral ocasional, assim como necrose hepática e esplênica, mas não vasculite. Também ocorrem hemorragia e choque, assim como danos cardíacos e hepáticos ocasionais. Em contraste com a LCM, as febres hemorrágicas não causam lesões no sistema nervoso central. Faringite, diarreia e vômitos podem prevalecer, especialmente em pacientes com febre de Lassa. A morte ocorre em até 50% daqueles com febre de Lassa e, em porcentagem menor, em indivíduos infectados por outros arenavírus que originam febres hemorrágicas. O diagnóstico é sugerido por viagem recente a áreas endêmicas.

Diagnóstico Laboratorial

Uma infecção por arenavírus é usualmente diagnosticada com base em achados sorológicos e moleculares (RT-PCR). Esses vírus são muito perigosos para isolamento de rotina. Amostras da garganta podem fornecer arenavírus; a urina é fonte do vírus da febre de Lassa, mas não do vírus da LCM. O risco de infecção é substancial para trabalhadores de laboratórios que manuseiam líquidos corporais. Por isso, se existe a suspeita diagnóstica, o pessoal de laboratório deve ser avisado e as amostras processadas apenas em aparelhos especializados para o isolamento dos patógenos contagiosos (**nível 3 para LCM e nível 4 para febre de Lassa e outros arenavírus**).

Tratamento, Prevenção e Controle

A droga antiviral **ribavirina** tem atividade limitada contra arenavírus e pode ser usada para tratar a febre de Lassa. Entretanto, o tratamento de suporte é o que geralmente está disponível para pacientes com infecções por arenavírus.

Essas infecções transmitidas por roedores podem ser prevenidas pela limitação do contato com o vetor. Por exemplo, a melhora da higiene para limitar o contato com camundongos reduziu a incidência de LCM em Washington, DC. Nas áreas geográficas onde ocorre febre hemorrágica, ratoeiras e armazenamento cuidadoso dos alimentos podem diminuir a exposição ao vírus.

A incidência de casos adquiridos em laboratório pode ser reduzida se as amostras, submetidas ao isolamento do arenavírus, forem processadas com precauções de biossegurança pelo menos de nível 3 ou 4 e não nos laboratórios comuns de virologia clínica.

Referências Bibliográficas

Bishop DHL, Shope RE. Bunyaviridae. New York: Plenum; 1979.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses*. ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Gonzalez JP et al. . Arenaviruses, Curr Top Microbiol Immunol. Berlin: Springer-Verlag; 2007: pp 253-288.

Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR. Infectious diseases. ed 3 Philadelphia: Saunders; 2004.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Kolakofsky D. Bunyaviridae, Curr Top Microbiol Immunol. Berlin: Springer-Verlag; 1991.

Oldstone MBA. Arenaviruses I and II, Curr Top Microbiol Immunol. Berlin: Springer-Verlag; 2002.

Peters CJ, Simpson GL, Levy H. Spectrum of hantavirus infection: hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome. *Annu Rev Med.* 1999;50:531–545.

Schmaljohn CS, Nichol ST. Hantaviruses, Curr Top Microbiol Immunol. Berlin: Springer-Verlag; 2001.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Tsai TF. Arboviral infections in the United States. Infect Dis Clin North Am. 1991;5:73–102.

Walter CT, Barr JN. Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses. *J Gen Virol*. 2011;92:2467–2484: Available at http://vir.sgmjournals.org/content/early/2011/08/22/vir.0.035105-0.full.pdf+html.

Wrobel S. Serendipity, science, and a new hantavirus. FASEB J. 1995;9:1247–1254.

Websites

Anderson WE, Soliman E, Perez N: California encephalitis. http://emedicine.medscape.com/article/234159-overview. Acessado em 22 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Hantavirus. www.cdc.gov/hantavirus/index.html. Acessado em 22 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Heartland virus. www.cdc.gov/ncezid/dvbd/heartland/index.html. Acessado em 18 de maio de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: La Crosse encephalitis. www.cdc.gov/lac/. Acessado em 22 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Lassa fever. www.cdc.gov/vhf/lassa/. Acessado em 14 de maio de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: Lymphocytic choriomeningitis (LCMV). www.cdc.gov/vhf/lcm/. Acessado em 14 de maio de 2015.

Gompf SG, Smith KM, Choe U: Arenaviruses. http://emedicine.medscape.com/article/212356-overview. Acessado em 22 de abril de 2015.

CAPÍTULO 54

Retrovírus

Uma mulher de 63 anos manifestou quadro de tuberculose e grave infecção oral causada por *Candida*. Na ocasião, essa paciente apresentava somente 50 células T CD4 por microlitro de sangue, e foram detectadas, pela contagem da carga viral do vírus da imunodeficiência humana (HIV), em torno de 200.000 cópias de genomas virais por mililitro de sangue. Embora fosse monogâmica, ela descobriu que seu marido não era.

- 1. Quais são os tipos de células que o HIV infecta e por que isso tem impacto tão grande na resposta imune do paciente?
- 2. Como o vírus se replica?
- 3. A que outras infecções oportunistas essa mulher está suscetível?
- 4. Quais são os fatores de risco para a infecção?
- 5. Como deve ser tratada a infecção?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Retrovírus

Palavras-gatilho

Transcriptase reversa, integração, sincícios

HIV: AIDS, CD4, correceptor da quimiocina, doenças oportunistas

HTLV: leucemia, célula em flor, células T CD4

Biologia, Virulência e Doença

- Tamanho médio, com envelope, nucleocapsídeo, genoma de RNA (+)
- Os retrovírus simples possuem três genes: gag, pol, env
- Retrovírus (HIV, HTLV) complexos possuem gag, pol, env e outros genes importantes
- Codificam DNA polimerase RNA-dependente (transcriptase reversa [RT]), replicando-se no núcleo
- O vírion transporta as enzimas RT, integrase e protease
- Replica-se através de DNA intermediário, integra DNA viral nos cromossomos do hospedeiro
- Forma sincícios
- Incapacita e escapa ao controle imunológico
- Oncornavírus podem codificar oncogenes e têm curto período de latência antes do câncer
- HTLV-1, sem oncogenes, período de latência longo antes da leucemia
- HTLV: leucemia aguda linfocítica de células T, paraparesia espástica tropical
- HIV: inicialmente infecta os macrófagos CD4/CCR5, células dendríticas e células T; a fase inicial da doença assemelhase à mononucleose, seguida de um período de latência; considera-se fase de AIDS quando a contagem de células T CD4 atinge valores inferiores a $200/\mu L$
- Retrovírus endógeno: integrado e aproximadamente 8% do genoma humano

Epidemiologia

- Distribuição mundial
- Transmitidos por via sanguínea e sêmen
- Grupos de risco elevado: indivíduos promíscuos, usuários de drogas IV, crianças nascidas de mães infectadas

Diagnóstico

• RT-PCR, ELISA

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratamento de HIV com análogos nucleosídeos, inibidores da protease e outros fármacos antivirais
- Prevenção mediante rastreio de estoques de sangue, sexo seguro, educação

Os retrovírus são provavelmente o grupo de vírus mais estudado na biologia molecular. São vírus **envelopados**, **de ácido ribonucleico (RNA) fita simples de polaridade positiva**, com morfologia e meios de replicação únicos. Em 1970, Baltimore e Temin demonstraram que os retrovírus codificam uma **polimerase de ácido desoxirribonucleico (DNA) RNA-dependente (a transcriptase reversa [RT])** e se replicam por meio de um intermediário de DNA. A cópia de DNA do genoma viral é então integrada ao cromossomo do hospedeiro, tornando-se um gene celular. Essa descoberta, que rendeu a Baltimore, Temin e Dulbecco o prêmio Nobel em 1975, contradizia o que era o dogma central da biologia — que a informação genética passava do DNA para o RNA e, em seguida, para as proteínas.

O primeiro retrovírus isolado foi o vírus do sarcoma de Rous, que, como demonstrado por Peyton Rous, produzia tumores sólidos (sarcomas) em galinhas. Como a maioria dos retrovírus, o vírus do sarcoma de Rous provou ter uma gama muito limitada de espécies e hospedeiros. Os retrovírus causadores de câncer têm sido, desde então, isolados de outras espécies animais e são classificados como vírus tumorais de RNA ou **oncornavírus**. Muitos desses vírus alteram o crescimento celular pela expressão de análogos de genes controladores do crescimento celular (denominados **oncogenes**). Entretanto, somente em 1981, quando Robert Gallo e colaboradores isolaram o vírus linfotrópico de células T humanas do tipo I (HTLV-1, do inglês, *human T-lymphotropic virus 1*) de um paciente com leucemia ou linfoma de células T do adulto, um retrovírus foi associado a doença humana.

No fim da década de 1970 e início da década de 1980, um número incomum de homens jovens homossexuais, haitianos, viciados em heroína e hemofílicos nos Estados Unidos (o grupo de risco inicial do "clube dos 4H") estava morrendo em consequência de infecções oportunistas normalmente benignas. Seus sintomas definiam uma doença nova, a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS, do inglês, acquired immunodeficiency syndrome). Entretanto, como se sabe atualmente, a AIDS não é limitada a esses grupos, mas pode ocorrer em qualquer pessoa exposta ao vírus. Hoje, cerca de 34 milhões de homens, mulheres e crianças, em todo o mundo, convivem com o vírus que causa AIDS. Montagnier e colaboradores em Paris, assim como Gallo e colaboradores nos Estados Unidos, anunciaram o isolamento do vírus da imunodeficiência humana (HIV-1, do inglês, human immunodeficiency virus) em pacientes com linfadenopatia e AIDS. Um subtipo do HIV-1, denominado HIV-2, foi isolado mais tarde e é prevalente no oeste da África. O HIV aparentemente foi transmitido dos chimpanzés para os humanos e depois se difundiu rapidamente pela África e pelo mundo com aumento crescente na população. Embora seja uma doença devastadora que não pode ser completamente curada, o desenvolvimento de coquetéis anti-HIV, contendo drogas antirretrovirais (higly active antiretroviral therapy ou terapia antirretroviral altamente ativa [HAART]), permitiu que muitos pacientes com HIV voltassem a ter uma vida normal.

Os retrovírus endógenos, os parasitas fundamentais, integraram-se, são transmitidos verticalmente e podem assumir até cerca de 8% dos cromossomos humanos. Embora não possam produzir vírions, eles ainda podem contribuir para influenciar funções do corpo.

Nosso conhecimento sobre os retrovírus tem crescido paralelamente com o progresso da biologia molecular e da imunologia. Por outro lado, os retrovírus forneceram importante ferramenta para a biologia molecular, a enzima RT e, por meio do estudo dos oncogenes virais, forneceram também um meio para ampliar o nosso entendimento sobre multiplicação, diferenciação e oncogênese celular.

As três subfamílias de retrovírus humanos são **Oncovirinae** (HTLV-1, HTLV-2, HTLV-5), **Lentivirinae** (HIV-1 e HIV-2) e **Spumavirinae** (Tabela 54-1). Apesar de um spumavírus ter sido o primeiro retrovírus humano a ser isolado, na ocasião nenhum vírus dessa subfamília foi associado a doença humana.



Classificação dos Retrovírus

Subfamília	Características	Exemplos	
Oncovirinae	Associados a câncer e transtornos neurológicos		
В	Apresenta o nucleocapsídeo excêntrico no vírion maduro	Vírus do tumor mamário do camundongo	
С	Apresenta o nucleocapsídeo localizado centralmente no vírion maduro	Vírus linfotrópico de células T humanas* (HTLV-1, HTLV-2, HTLV-5), vírus do sarcoma de Rous (galinhas)	
D	Apresenta o nucleocapsídeo com forma cilíndrica	Vírus símio Mason-Pfizer	
Lentivirinae	Têm uma doença de progressão inicial lenta; causam transtornos neurológicos e imunossupressão; são vírus com o nucleocapsídeo cilíndrico do tipo D	Vírus da imunodeficiência humana* (HIV-1, HIV- 2); visna vírus (carneiro); vírus da artrite- encefalite caprina (cabras)	
Spumavirinae	Não causam doença clínica, mas causam citopatologia "espumosa" vacuolada característica	Spumavírus humano*	
Retrovírus endógenos humanos (HERVs)	Sequências de retrovírus que são integradas ao genoma humano	Vírus placentário humano	

^{*} Também classificados como retrovírus complexos em razão da necessidade de proteínas assessórias para a replicação.

Classificação

Os retrovírus são classificados de acordo com as doenças que causam, o tropismo tecidual, a gama de hospedeiros, a morfologia do vírion e a complexidade genética (Tabela 54-1). Os **oncovírus** incluem os únicos retrovírus que podem **imortalizar ou transformar células-alvo**. Esses vírus também são categorizados pela morfologia de seu nucleocapsídeo (ou *core*) nos tipos A, B, C ou D quando visualizados pela microscopia eletrônica (Fig. 54-1; Tabela 54-1). Os **lentivírus são vírus lentos associados a doenças neurológicas e imunossupressoras**. Os spumavírus, representados por um vírus que leva o tecido a ter aparência esponjosa, causam efeito citopatológico característico; mas, como já foi citado, não parecem provocar doenças clínicas.

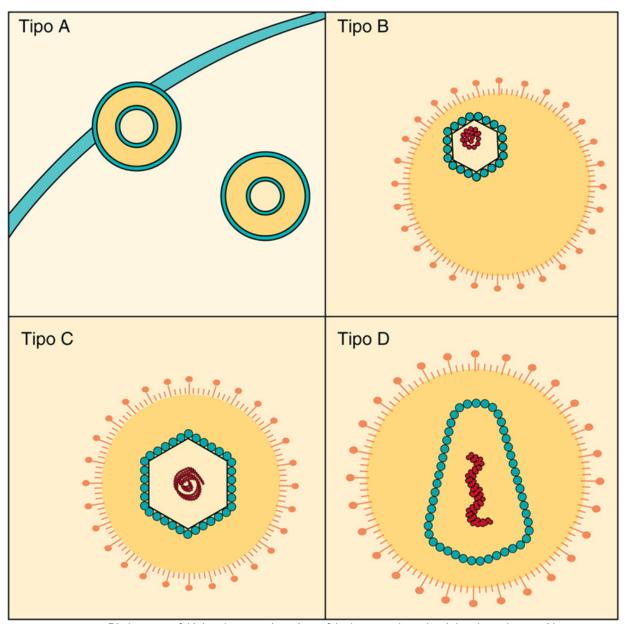


FIGURA 54-1 Distinção morfológica dos retrovírus. A morfologia e a posição do núcleo do nucleocapsídeo são utilizadas para classificar os vírus. As partículas do tipo A são formas intracitoplasmáticas imaturas que brotam através da membrana plasmática formando partículas maduras dos tipos B, C e D.

Estrutura

Os retrovírus são vírus RNA de formato esférico, envelopados, com diâmetro de 80 a 120 nm (Fig. 54-2 e Quadro 54-1).O envelope contém glicoproteínas virais e é adquirido pelo brotamento a partir da membrana plasmática. O envelope reveste o capsídeo que contém, no seu interior, duas cópias idênticas do genoma de RNA fita simples de polaridade positiva dentro de um núcleo eletrondenso. O vírion também contém entre 10 e 50 cópias das enzimas transcriptase reversa e integrase e dois RNAs de transferência celular (RNAts). Esses RNAts estão associados com cada cópia do genoma e podem ser utilizados como iniciadores (*primers*) para a RT. A morfologia do nucleocapsídeo difere entre os vírus e pode ser utilizada como forma de classificação dos retrovírus (Fig. 54-1). O núcleo do vírion do HIV se assemelha a um cone seccionado (Fig. 54-3).

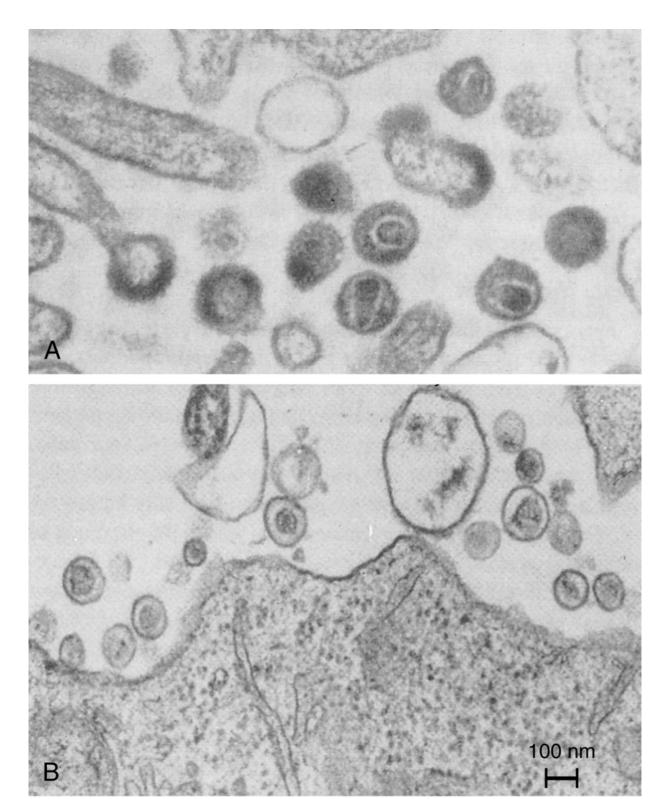


FIGURA 54-2 Micrografias eletrônicas de dois retrovírus. **A,** Vírus da imunodeficiência humana. Note-se que o nucleocapsídeo apresenta formato de cone em muitos vírions. **B,** Vírus linfotrópico de células T humanas. Note-se a morfologia do tipo C, caracterizada por um nucleocapsídeo central simétrico. (De Belshe RB: Textbook of human virology, ed 2, St Louis, 1991, Mosby.)



Quadro 54-1 Características Específicas dos Retrovírus

São vírus **envelopados**; apresentam vírion de formato esférico possuindo de 80 a 120 nm de diâmetro e o capsídeo contém **duas** cópias do genoma de **RNA de fita simples de polaridade positiva** (≈ 9 quilobases para o vírus da imunodeficiência humana [HIV] e vírus linfotrópico de células T humanas).

As enzimas DNA polimerase RNA-dependente **(transcriptase reversa)**, duas cópias de RNAt, protease e integrase são carreadas no vírion.

O receptor do vírus é o determinante inicial do tropismo tecidual.

A replicação ocorre por meio de um intermediário de DNA chamado de provírus.

O provírus se integra aleatoriamente no cromossomo do hospedeiro e se torna um gene celular.

A transcrição do genoma é regulada pela interação de fatores de transcrição do hospedeiro com elementos promotores e iniciadores presentes nas sequências terminais repetidas longas do genoma

Os **retrovírus simples** codificam os genes *gag*, *pol* e *env*. Os **vírus complexos** também codificam genes assessórios (p. ex., *tat*, *rev*, *nef*, *vif* e *vpu* para HIV).

O vírus é montado e brota a partir da membrana plasmática.

A morfogênese final do HIV *requer* a clivagem por protease dos polipeptídeos Gag e Gag-pol após a aquisição do envelope.

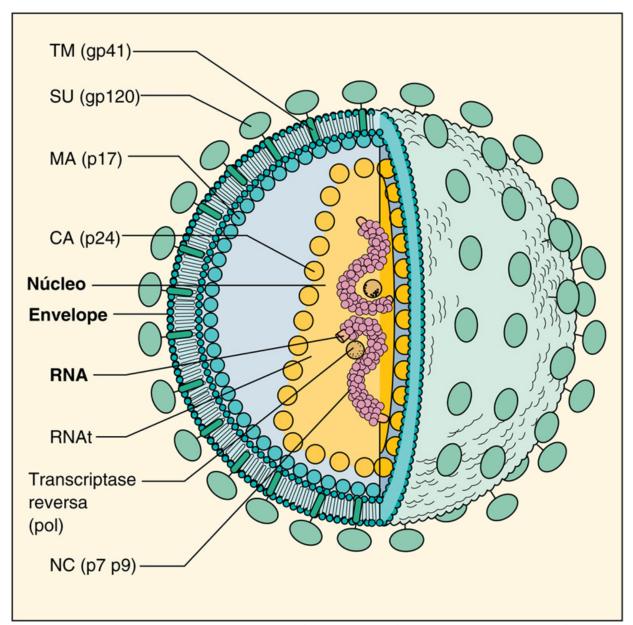


FIGURA 54-3 Corte transversal do vírus da imunodeficiência humana. O vírion envelopado contém duas fitas idênticas de ácido ribonucleico (*RNA*), a RNA polimerase, a integrase, e dois RNAs de transferência (*RNAt*), com bases pareadas com o genoma dentro do núcleo proteico. Este é cercado por proteínas e por uma bicamada lipídica. As projeções do envelope são a glicoproteína (*gp*)120, proteína de ligação e a proteína de fusão gp41. *CA*, Capsídeo; *MA*, matriz; *NC*, nucleocapsídeo; *SU*, componente da superfície; *TM*, componente transmembrana da glicoproteína de envelope. (Modificado de Gallo RC, Montagnier L: AIDS in 1988. *Sci Am* 259:41-48, 1988. Copyright George Kelvin.)

O genoma dos retrovírus apresenta na extremidade 5' uma proteção denominada *cap* e na extremidade 3' uma cauda de poliadenilato ou poliA (Fig. 54-4 e Tabela 54-2). Embora o genoma se assemelhe a um RNA mensageiro (RNAm), não é infeccioso, porque não codifica uma polimerase que possa gerar diretamente mais RNAm.

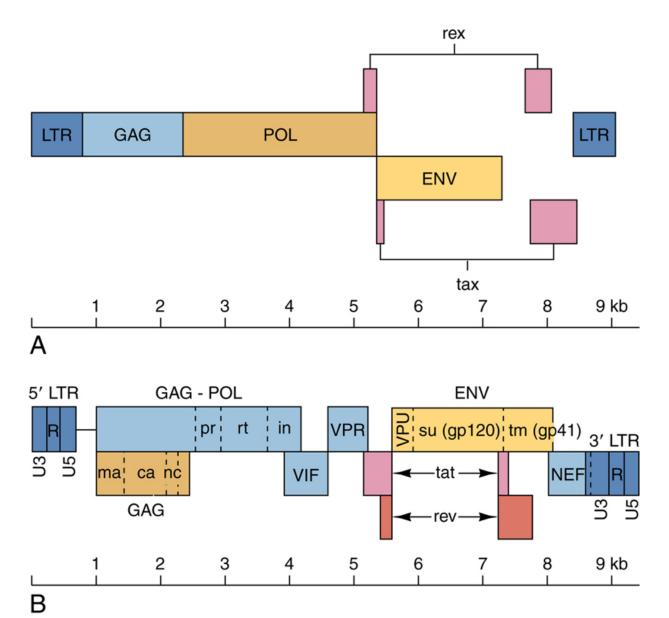


FIGURA 54-4 Estrutura genômica dos retrovírus humanos. A, Vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1). B, Vírus da imunodeficiência humana (HIV-1). Os genes estão na Tabela 54-2 e na Figura 54-3. Ao contrário de outros genes desses vírus, a produção do RNA mensageiro para os genes tax e rex (HTLV-1) e tat e rev (HIV) requer a remoção de duas unidades de íntrons. O HIV-2 tem um mapa genômico semelhante, mas tem um gene vpx e não um gene vpu. O gene vpu do HIV-2 é denominado de vpx. ENV, Gene da glicoproteína do envelope; GAG, gene do antígeno grupo específico; LTR, sequências terminais repetidas longas; POL, gene da polimerase. Nomenclatura de proteínas do HIV: ca, Proteína do capsídeo; in, integrase; ma, proteína da matriz; nc, proteína do nucleocapsídeo; pr, protease; rt, transcriptase reversa; su, componente de superfície da glicoproteína; tm, componente transmembrana da glicoproteína. (Modificado de Belshe RB: Textbook of human virology, ed 2, St Louis, 1991, Mosby.)



Genes dos Retrovírus e suas Funções

Genes	Vírus	Funções
gag	Todos	Antígeno de grupo específico: proteínas do núcleo e capsídeo
int	Todos	Integrase
pol	Todos	Polimerase: transcriptase reversa, protease, integrase
pro	Todos	Protease
env	Todos	Envelope: glicoproteínas
tax	HTLV	Transativação de genes virais e celulares
tat	HIV-1	Transativação de genes virais e celulares
rex	HTLV	Regulação do processamento de RNA e promoção da exportação para o citoplasma
rev	HIV-1	Regulação do processamento de RNA e promoção da exportação para o citoplasma
nef	HIV-1	Diminui a expressão do receptor CD4 na superfície celular; facilita a ativação das células T; auxilia a progressão para AIDS (essencial)
vif	HIV-1	Infectividade do vírus promove a montagem do vírion e bloqueia uma proteína antiviral celular
<i>v</i> ри	HIV-1	Facilita a montagem e liberação do vírion, induz a degradação do receptor CD4 na superfície celular
vpr (vpx*,	HIV-1	Transporte do DNA complementar para o núcleo, bloqueia a multiplicação celular, facilita a replicação em macrófagos
LTR	Todos	Elementos promotores e amplificadores

AIDS, Síndrome da imunodeficiência adquirida; DNA, ácido desoxirribonucleico; HIV, vírus da imunodeficiência humana; HTLV, vírus linfotrópico de células T humanas; LTR, sequências terminais repetidas longas; RNA, ácido ribonucleico.

O genoma dos **retrovírus simples** consiste em três genes principais que codificam poliproteínas para as seguintes proteínas enzimáticas e estruturais do vírus: **Gag** (antígeno específico do grupo, capsídeo, matriz e proteínas de ligação ao ácido nucleico), **Pol** (polimerase, protease e integrase) e **Env** (envelope, glicoproteínas). Em cada extremidade do genoma existem sequências **terminais repetidas longas (LTR)**. As sequências LTR contêm promotores, amplificadores e outras sequências gênicas utilizadas para a ligação de diferentes fatores de transcrição celular. Vírus oncogênicos também podem conter um **oncogene** promotor do crescimento. Os **retrovírus complexos**, incluindo o HTLV, o HIV e outros lentivírus expressam proteínas precoces e tardias que codificam diversos fatores de virulência que requerem um processamento transcricional (splicing) mais complexo que o dos retrovírus simples.

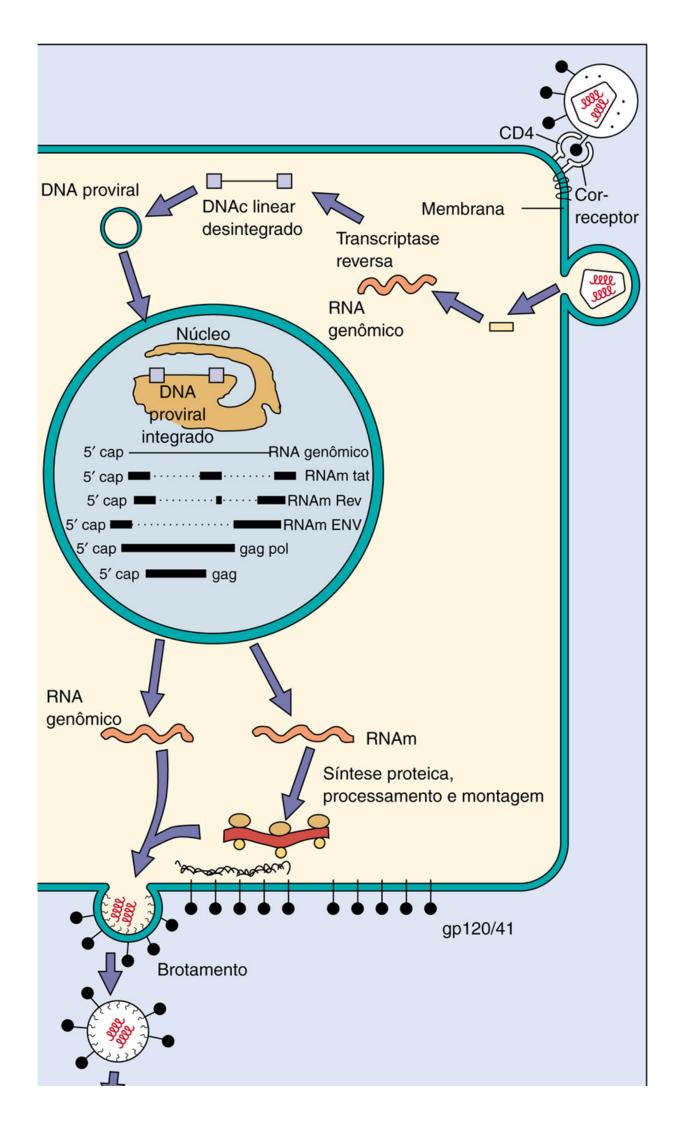
As glicoproteínas virais são produzidas pela clivagem proteolítica da poliproteína codificada pelo gene env. O tamanho das glicoproteínas difere entre cada grupo de vírus. Por exemplo, a (glicoproteína) gp62 do HTLV-1 é clivada em gp46 e p21, e a gp160 do HIV é clivada em gp41 e gp120. Essas glicoproteínas formam espículas trímeras com a ponta arredondada (em formato de pirulito) que são visíveis sobre a superfície do vírion. A maior glicoproteína do HIV, a gp120, se liga aos receptores da superfície celular, determina o tropismo tecidual primário do vírus e é reconhecida por anticorpos neutralizantes. A subunidade menor (gp41 do HIV) forma o cabo do pirulito e promove a fusão célula a célula. A gp120 do HIV é extremamente glicosilada; por conseguinte, sua antigenicidade pode ser alterada. Além disso, a especificidade ao receptor pode sofrer alterações por mutações ocorridas durante infecção crônica por HIV. Esses fatores impedem a eliminação do vírus pelo anticorpo.

Replicação

A replicação do HIV irá servir como um exemplo para os outros retrovírus, a menos que seja indicado. A infecção se inicia com a ligação das espículas das glicoproteínas virais (trímero formado pelas moléculas gp120 e gp41) ao receptor primário, a proteína CD4 e, então, a um segundo receptor, o receptor de quimiocina ligado à proteína G com sete domínios transmembrana (Fig. 54-5). A ligação ao receptor é o determinante inicial e principal do tropismo ao tecido e da gama de hospedeiro para um retrovírus. O correceptor utilizado após a infecção inicial por HIV é o CCR5, e é expresso em células mieloides e periféricas, células ativadas, células T de memória central, células do intestino e outros subconjuntos de células T CD4 (macrófagos, vírus [M]- -trópicos). Depois, durante a infecção crônica de um hospedeiro, o gene env sofre mutações que fazem com que a gp120 se ligue a um receptor de quimiocinas diferente (CXCR4), que é primariamente expresso nas células T (vírus T-trópico) (Fig. 54-6). A ligação ao receptor de quimiocinas ativa a célula e aproxima o envelope viral e a membrana plasmática celular, permitindo que a gp41 interaja com as duas membranas, promovendo sua fusão. Esse mecanismo de fusão mediado pela ligação de CCR5 e gp41 é o alvo para drogas antivirais que interferem na ação da gp41. O HIV pode também ligar-se a uma molécula de adesão celular, a integrina α-4 β-7 (também conhecida como VLA-4

^{*}Apenas em HIV-2.

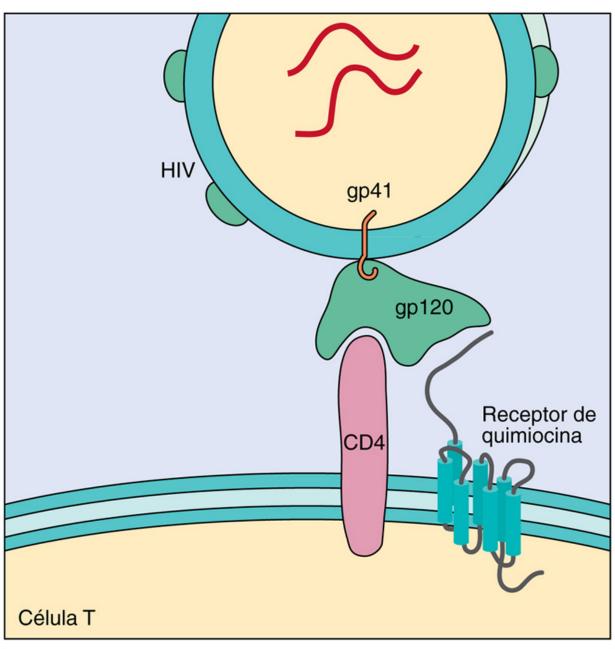
[antígeno-4 muito tardio], e no receptor homing das células T no intestino), e à DC-SIGN (dendritic cell-specific intercellul adhesion molecule-3-grabbing non-integrin) nas células dendríticas e outras células.	ar

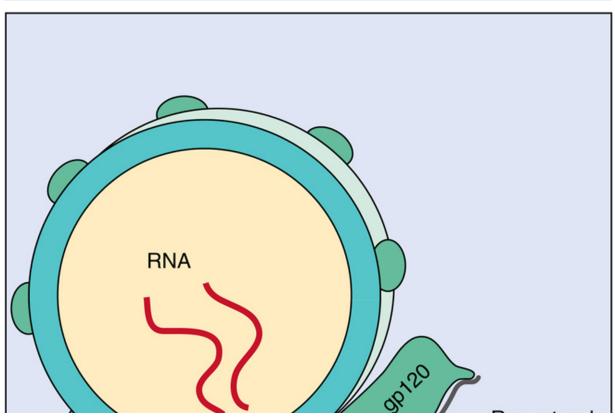




Maturação (ação da protease)

FIGURA 54-5 O ciclo de vida do vírus da imunodeficiência humana (HIV). O HIV se liga a CD4 e correceptores de quimiocinas e penetra por fusão. O genoma é transcrito de forma reversa em ácido desoxirribonucleico (DNA) no citoplasma, entra no núcleo e é integrado no DNA nuclear. A transcrição e tradução do genoma ocorrem como um gene celular de uma forma semelhante à do vírus linfotrópico das células T humanas (Fig. 54-7). O vírus é montado na membrana plasmática e matura após o brotamento a partir da célula. DNAc, DNA complementar; RNAm, RNA mensageiro.(Modificado de Fauci AS: The human immunodeficiency virus: infectivity and mechanisms of pathogenesis, Science 239:617-622, 1988.)





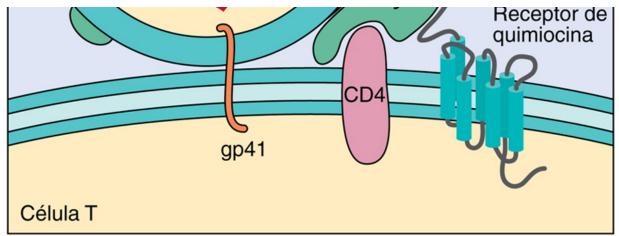


FIGURA 54-6 Ligação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) à célula-alvo. O receptor da quimiocina CCR5 é correceptor com CD4, durante a infecção inicial de um indivíduo, depois ocorre mutação no gene env e o receptor CXCR4 passa a ser também utilizado. RNA, Ácido ribonucleico.(Modificado de Balter M: New hope in HIV disease, Science 274:1988, 1996.)

Uma vez liberado o genoma no citoplasma, inicia-se a fase precoce de replicação. A RT, codificada pelo gene pol, utiliza o tRNA presente no vírion como um primer e sintetiza um DNA complementar (DNAc), de polaridade negativa. A RT também atua como uma ribonuclease H, degradando o genoma de RNA e sintetizando a fita positiva do DNA (Fig. 54-7). A RT é o principal alvo de drogas antivirais. Durante a síntese do DNAc do vírion (provírus), sequências de cada extremidade do genoma (U3 e U5) são duplicadas, dessa forma ligando as LTRs a ambas as terminações. Esse processo cria sequências necessárias para a integração e sequências promotoras e amplificadoras dentro da LTR para a regulação da transcrição. A cópia de DNA do genoma é maior que o RNA original.

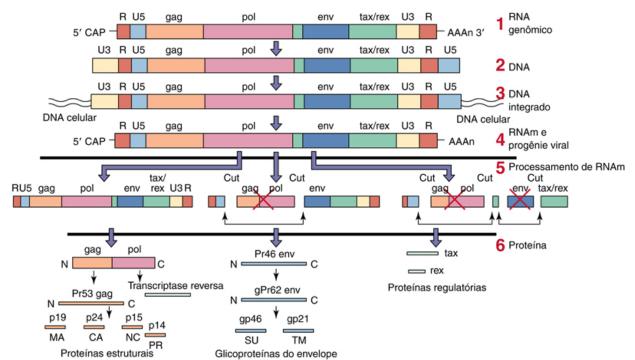


FIGURA 54-7 Transcrição e tradução do vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1). (Uma abordagem similar, porém mais complexa, é usada para o vírus da imunodeficiência humana.) (1) O RNA genômico é transcrito de maneira reversa e (2) circularizado e então (3) integrado dentro da cromatina do hospedeiro. (4) Um RNA completo e (5) um RNA mensageiro individual (RNAm) são processados a partir desse RNA. O RNAm para tax e rex requer a excisão de duas sequências (X vermelho), as sequências gag-pol e env. Os outros RNAm, incluindo o RNAm de env, requerem a excisão de uma sequência. (6) A tradução desses RNAm produz poliproteínas, que são, subsequentemente, clivadas. AAAn Poliadenilato. Nomenclatura dos genes: env, glicoproteína do envelope; gag, gene do antígeno de grupo; pol, polimerase; rex, regulador do processamento; tax, transativador. Nomenclatura das proteínas: C, porção carboxiterminal do peptídeo; CA, capsídeo; MA, matriz; N, porção aminoterminal; NC, nucleocapsídeo; PR, protease; SU, componente de superfície; TM, componente transmembrana da glicoproteína do envelope. Prefixos: gp, glicoproteína; gPr, poliproteína precursora glicosilada; p, proteína; PR, poliproteína precursora.

A RT é muito suscetível a erros. Por exemplo, a taxa de erros da RT do HIV é de um erro a cada 2.000 bases, ou aproximadamente cinco erros por genoma (o genoma do HIV possui cerca de 9.000 pares de bases), o equivalente a pelo menos um erro de digitação a cada página deste texto, porém diferentes erros em cada livro. Essa instabilidade genética do

HIV é responsável por promover a geração de novas cepas do vírus durante a infecção de um indivíduo, uma propriedade que pode alterar a patogenicidade do vírus e promover escape à resposta imune.

Ao contrário de outros retrovírus, o DNAc de cadeia dupla do HIV e de outros lentivírus pode entrar no núcleo através dos poros nucleares de células T em repouso. A dissolução do envelope nuclear durante a divisão celular é exigida no caso de outros retrovírus. O DNAc é então transportado para o núcleo e inserido no cromossomo do hospedeiro com a ajuda de uma enzima que é codificada e transportada pelo vírus, a **integrase**. A integração requer a multiplicação celular, mas o DNAc do HIV e de outros lentivírus pode permanecer no núcleo e no citoplasma na forma de um DNA circular não integrado até que a célula seja ativada. A integrase é outro importante alvo para drogas antirretrovirais.

Uma vez integrado, inicia-se a fase tardia e o DNA viral ou **provírus** é transcrito como um gene celular pela RNA polimerase II do hospedeiro. A transcrição do genoma produz uma molécula única de RNA que, nos retrovírus simples, é processada para produzir vários RNAms, que contêm as sequências dos genes *gag*, *gag-pol* ou *env*. Os transcritos completos do genoma também podem ser agrupados dentro de novos vírions.

Como o provírus atua como um gene celular, sua replicação depende da extensão da metilação do DNA viral e da taxa de multiplicação celular, mas principalmente da capacidade da célula de reconhecer as sequências promotoras e amplificadoras codificadas na região LTR. A estimulação da célula por citocinas ou mitogênios produzidos em resposta a outras infecções gera fatores de transcrição que se ligam à LTR e no caso do HIV. Esses fatores são necessários para ativar a transcrição do genoma integrado. Se o vírus codifica oncogenes virais, essas proteínas promovem o crescimento celular e estimulam a transcrição e, assim, a replicação viral. A capacidade de uma célula para transcrever o genoma retroviral é também um determinante importante para o tropismo tecidual e a gama de hospedeiros de um retrovírus.

HTLV e HIV são **retrovírus complexos** e passam por duas fases de transcrição. Durante a fase precoce, o HTLV-1 expressa duas proteínas, denominadas **Tax** e **Rex**, as quais regulam a replicação viral. Diferente dos outros RNAms virais, o RNAm de Tax e Rex requer mais de uma etapa de processamento (*splicing*). O gene *rex* codifica duas proteínas que se ligam ao RNAm viral, impedindo o processamento e promovendo o transporte do RNAm para o citoplasma. O processamento duplo e a expressão dos RNAms de *tax/rex* ocorrem na fase precoce (quando há baixa concentração de Rex) e as proteínas estruturais são expressas na fase tardia (quando há alta concentração de Rex). Nessa fase da infecção, Rex seletivamente aumenta a expressão e o processamento dos genes estruturais que são requeridos em abundância. A proteína tax é um **ativador transcricional** e eleva a transcrição do genoma viral a partir da sequência promotora do gene LTR na extremidade 5′. Tax também ativa outros genes, incluindo aqueles para a interleucina (IL)-2, IL-3, fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos e o receptor de IL-2. A ativação desses genes promove a multiplicação da célula T infectada, o que aumenta a replicação viral.

A replicação do HIV é regulada por até seis **produtos gênicos denominados "acessórios"** (Tabela 54-2). A proteína **Tat**, assim como a Tax, é uma transativadora da transcrição de genes virais e celulares. A proteína **Rev** age como a proteína Rex para regular e promover o transporte do RNAm viral dentro do citoplasma. A proteína **Nef** reduz a expressão de CD4 na superfície celular e de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC I), altera as vias de sinalização de células T, regula a citotoxicidade do vírus e é necessária para manter altas cargas virais. A proteína Nef parece ser essencial para promover o progresso da infecção da AIDS. A proteína **Vif** promove a montagem, a maturação viral e se liga a uma proteína celular antiviral denominada APOBEC-3G para impedi-la de hipermutar o DNAc viral, ajudando o vírus a se replicar nas células mieloides e em outras células. A **proteína Vpu** reduz a expressão de CD4 na superfície celular e amplifica a liberação do vírion. A **proteína Vpr** (Vpx no HIV-2) é importante para o transporte do DNAc para o núcleo. A proteína Vpr também paralisa a célula na fase G2 do ciclo de multiplicação celular, o que é provavelmente ideal para a replicação do HIV. A Vpx facilita a replicação do vírus em células dendríticas e macrófagos. Curiosamente, isso facilita a apresentação de antígenos nos antígenos MHC de classe I, promovendo a produção de células T citotóxicas CD8, o que, por sua vez, pode limitar a progressão da doença por HIV-2.

As proteínas traduzidas a partir dos RNAms *gag, gag-pol* e *env* são sintetizadas como poliproteínas e, em seguida, clivadas para se tornarem proteínas funcionais (Fig. 54-7). As glicoproteínas virais são sintetizadas, glicosiladas e processadas por retículo endoplasmático e complexo de Golgi. Essas glicoproteínas são então clivadas e se associam para formar trímeros e migrar para a membrana plasmática.

As poliproteínas Gag e Gag-Pol são aciladas e se ligam à membrana plasmática contendo as glicoproteínas do envelope viral. A associação de duas cópias do genoma e moléculas do RNA de transferência celular promove o brotamento do vírion. Após a aquisição do envelope e a saída da célula, as proteases virais clivam as poliproteínas Gag e Gag-Pol para liberar a RT e formar o núcleo do vírion, garantindo, assim, a inclusão desses componentes dentro do vírion. A clivagem promovida pelas proteases virais é fundamental para a produção de vírions infecciosos e, portanto, essas enzimas são importantes alvos de drogas antivirais.

A aquisição do envelope (envelopamento) e a liberação dos retrovírus ocorrem na superfície celular. Durante o brotamento e a formação do envelope viral, o HIV capta proteínas celulares, incluindo moléculas do MHC. A replicação e o brotamento dos retrovírus não necessariamente destroem a célula. O HIV também pode se disseminar de célula a célula por meio da produção de células gigantes multinucleadas, ou sincícios. Os sincícios são frágeis e sua formação aumenta a atividade citolítica do vírus.

Vírus da Imunodeficiência Humana

Existem quatro genótipos de HIV-1, denominados M (do inglês *main* ou principal), N, O e P. A maioria dos HIVs do tipo 1 pertence ao grupo M, que, por sua vez, é dividido em 11 subtipos, ou variantes, designadas de A a K (ou para HIV do tipo 2, de A a F). Essa classificação baseia-se em diferenças na sequência dos genes *env* (que pode variar de 7% a 12%) e *gag*, que, por sua vez, alteram a antigenicidade e o reconhecimento imune das proteínas gp120 e de outras proteínas do capsídeo viral desses vírus.

Patogênese e Imunidade

O principal determinante na patogênese e doença causadas pelo HIV é o **tropismo do vírus por células T que expressam CD4 e células mieloides** (Fig. 54-8 e Quadro 54-2). A imunossupressão induzida pelo HIV (AIDS) resulta da redução no número de células T CD4, que elimina a capacidade de ativar e controlar as respostas inatas e imunitárias.

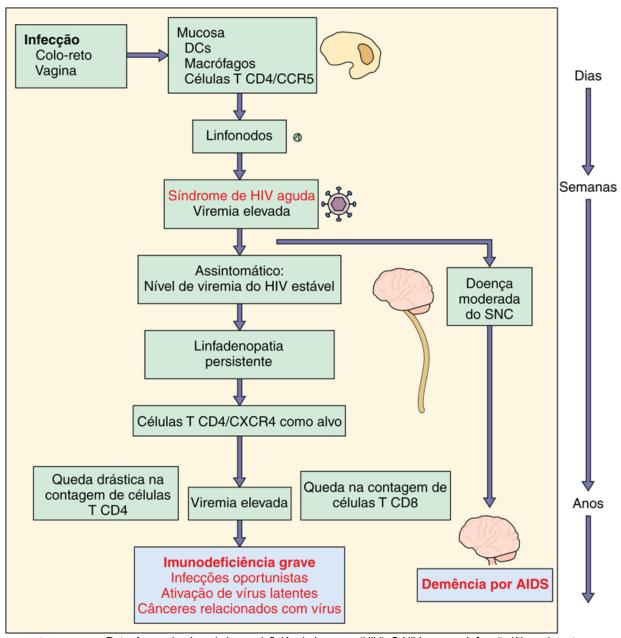


FIGURA 54-8 Patogênese do vírus da imunodeficiência humana (*HIV*). O HIV causa a infecção lítica e latente de macrófagos, células dendríticas e células T CD4 e destrói a função dos neurônios. As consequências dessas ações são a imunodeficiência e a demência pela síndrome da imunodeficiência adquirida (*AIDS*). SNC, Sistema nervoso central. (Modificado de Fauci AS: The human immunodeficiency virus: infectivity and mechanisms of pathogenesis, *Science* 239:617-622, 1988.)



Quadro 54-2 Mecanismos Patológicos do Vírus da Imunodeficiência Humana

O vírus da imunodeficiência humana infecta principalmente células T CD4 e células da linhagem mieloide (p. ex., monócitos, macrófagos, macrófagos alveolares pulmonares, células dendríticas e células microgliais do cérebro).

- O vírus causa infecção lítica de células T CD4 permissivas ativadas e induz a morte semelhante à apoptose de células T CD4 não permissivas.
- O vírus ocasiona infecção persistente pouco produtiva e infecção latente de células da linhagem mieloide e células T de memória.
- O vírus provoca a formação de sincícios em células expressando grande quantidade de antígeno CD4 (células T), com subsequente lise celular.
- O vírus altera a função de células T, das células dendríticas e dos macrófagos.
- O vírus reduz os números das células T CD4 e a ativação das células auxiliares das células CD8 T, macrófagos, além de outras funções celulares.
- Consequentemente, o número de células T CD8 e a função dos macrófagos diminuem.
- Células microgliais infectadas rompem a função neuronal.

Durante a transmissão sexual, o HIV infecta uma superfície de mucosa, entra e rapidamente infecta células do tecido linfoide associado com a mucosa (MALT), incluindo o intestino. Os estágios iniciais de infecção são mediados pelos vírus com tropismo às células mieloides (denominado M-trópico), que se ligam ao CD4 e ao receptor de quimiocinas CCR5 nas células dendríticas e em outras células da linhagem de monócitos-macrófagos, assim como em células memória, TH1, a maioria das células T associadas ao intestino e outras células T CD4. Indivíduos com mutações no receptor CCR5 também são resistentes à infecção por HIV, e a ligação ao receptor CCR5 é importante alvo para drogas antivirais. A mutação CCR5-32 delta que impede a expressão de superfície deste correceptor é prevalente em indivíduos do norte da Europa (1% são homozigóticos e 10% a 15% são heterozigóticos para a mutação).

A ligação-alvo ao CCR5 ou às células T CD4 que expressam α -4 β -7 integrina, rapidamente esgota o tecido linfoide intestinal de células T CD4. A depleção da população intestinal de células T CD4 desarranja completamente a regulação imune da flora intestinal normal e a manutenção do epitélio da mucosa intestinal, levando a vazamentos e diarreia.

Os macrófagos, as DCs, as células T de memória e as células estaminais hematopoiéticas são persistentemente infectados com HIV e são os principais reservatórios e meios de distribuição de HIV (cavalo de Troia). O HIV pode ligar-se à molécula de lectina de DC-SIGN e permanece sobre a superfície das células dendríticas (incluindo as DC foliculares). As células T CD4 podem ser infectadas com o HIV ligado às células ou por transmissão célula a célula do vírus por ligação à DC. No final da progressão da doença, a mutação no gene *env* para a gp120 ocorre em alguns dos vírus, e isso muda o seu tropismo de M-trópico (R5) a T--trópico (vírus X4). A proteína gp120 do vírus T-trópico liga-se a CD4 e ao receptor da quimiocina CXCR4. Alguns vírus podem utilizar ambos os receptores (vírus R5X4). Esse fato expande a diversidade dos alvos virais, de modo a incluir quase todas as células T CD4.

A morte de células T CD4 pode resultar da citólise direta induzida pelo HIV (incluindo a formação de sincícios) (Tabela 54-3) e citólise imune induzida por células T citotóxicas, mas um grande número de células T em repouso não permissivas cometem um tipo de suicídio celular inflamatório (piroptose) induzido pela presença de grandes quantidades de cópias de DNA circular não integradas do genoma. A piroptose é uma forma inflamatória de morte celular que pode atrair para o local a ser infectado mais células-T inativadas, que podem, por sua vez, também sucumbir à piroptose.

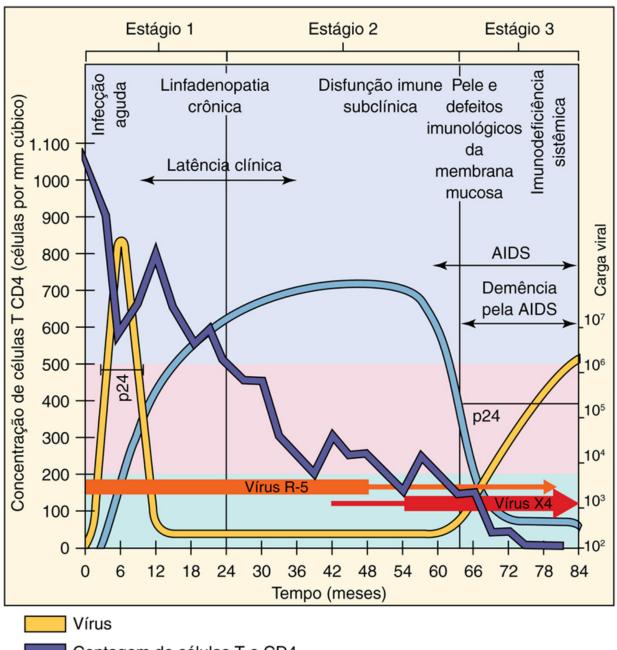


Tabela 54-3

Mecanismos de Evasão do Sistema Imune pelo Vírus da Imunodeficiência Humana

Característica	Função
Infecção de células dendríticas, macrófagos e células T CD4 auxiliares	Perda das células ativadoras e controladoras do sistema imune
Variação antigênica (via mutação) da gp120	Evasão da detecção por anticorpos
Intensa glicosilação de gp120	Evasão da detecção por anticorpos
Disseminação direta célula a célula e formação de sincícios	Evasão da detecção por anticorpos

O curso da doença por HIV é paralelo à diminuição no número de células T CD4 e à quantidade de vírus no sangue (Fig. 54-9). O HIV infecta e esgota as células intestinais T CD4 que expressam CCR5 muito precocemente após a infecção. Durante a fase aguda subsequente à infecção, há uma grande explosão de produção de vírus (10⁷ partículas/mL de plasma). A proliferação de células T em resposta à apresentação do antígeno pelas células dendríticas e macrófagos infectados e ainda pelas células T CD4 ativadas promove uma síndrome semelhante à mononucleose. As células T CD8 matam muitas células infectadas e limitam a produção de vírus. Os níveis do vírus no sangue diminuem e o indivíduo permanece assintomático (período de latência), mas a replicação viral continua nos gânglios linfáticos, causando a interrupção da estrutura e função, e a contagem de células T CD4 continua a cair. Em uma fase tardia da doença, os níveis de CD4 diminuem para um ponto em que eles não conseguem manter a ação antiviral de células T CD8, e, em seguida, os níveis de vírus no sangue aumentam enormemente, os vírus T-trópicos aumentam, as contagens de células T CD4 diminuem ainda mais rápido, a estrutura dos gânglios linfáticos é destruída e o paciente torna-se imunodeficiente.



Contagem de células T e CD4

Anticorpo anti-HIV-1

FIGURA 54-9 Evolução temporal e os estágios do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Longo período de latência clínica é seguido pelos sintomas iniciais semelhantes à mononucleose. A infecção inicial é com o vírus R5-M-trópico, e mais tarde surge o vírus X4--T-trópico. A diminuição progressiva no número de células T CD4, mesmo durante o período de latência, permite a ocorrência de infecções oportunistas. Os estágios da doença por HIV são definidos pelos níveis de células T CD4 e pela ocorrência de doenças oportunistas. (Modificado de Redfield RR, Burke DS: HIV infection: the clinical picture, Sci Am 259:90-98, 1988; updated 1996.)

O papel central das células T CD4 auxiliares na iniciação e controle das respostas inatas e imunes é indicado pelo aparecimento de doenças oportunistas após a infecção por HIV (Fig. 54-10). As células T CD4 ativadas iniciam respostas imunitárias por meio da liberação de citocinas necessárias para a ativação de células epiteliais, macrófagos, neutrófilos, outras células T, células B e células natural killer. As respostas dos linfócitos CD4 TH17, que ativam os neutrófilos e protegem o mucoepitélio, são as primeiras a serem depletadas (contagem de CD4 < 500/μL), aumentando a suscetibilidade a infecções fúngicas e bacterianas. À medida que as células T CD4 diminuem (contagem de CD4 < 200/µL), as respostas de TH1 dissipam-se e não conseguem ativar números suficientes de células T CD8 e macrófagos para controlar as infecções latentes e infecções novas por bactérias intracelulares e por vírus (p. ex., herpes-vírus e poliomavírus JC que causam leucoencefalopatia multifocal progressiva [LMP] e cânceres associados a EBV e HHV8 [linfomas de Hodgkin e não-Hodgkin, sarcoma de Kaposi]).

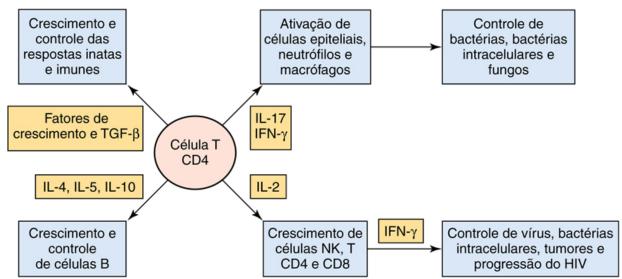


FIGURA 54-10 As células T CD4 têm papel crítico na ativação e regulação da resposta imune mediada por células, especialmente contra patógenos intracelulares. A perda de células T CD4 induzida pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) resulta na perda das funções ativadas e reguladas pelas citocinas indicadas. IFN, Interferon; IL, interleucina; NK, células natural killer; TGF-β, fator-β de crescimento tumoral.

Além da imunodepressão, o HIV pode também causar anomalias neurológicas. As células da micróglia e macrófagos são os tipos de células predominantemente infectadas pelo HIV no cérebro. Os monócitos e células microgliais infectados liberam substâncias neurotóxicas ou fatores quimiotáticos que promovem respostas inflamatórias e morte neuronal no cérebro. A imunossupressão também expõe o indivíduo ao risco de infecções oportunistas do cérebro.

A resposta inata e imunológica tenta limitar a infecção viral, mas também contribui para a patogênese. As células infectadas têm enzimas que restringem a replicação dos retrovírus (incluindo retrovírus endógenos), mas o HIV pode sobrepor suas ações. A presença de DNAc desintegrado do HIV desencadeia a produção de interferon tipo 1, mas também o suicídio celular inflamatório (piroptose). As células T CD8 são fulcrais para limitar a progressão da doença por HIV. As células T CD8 podem matar as células infectadas por ação citotóxica direta e podem produzir fatores supressivos que restringem a replicação viral, incluindo quimiocinas que também bloqueiam a ligação do vírus ao seu correceptor. Os indivíduos com certos tipos de MHC (antígeno leucocitário humano [HLA] B27 ou B57) ligarão preferencialmente peptídeos de HIV em vez de peptídeos celulares, com o objetivo de tornar as células infectadas melhores alvos para serem eliminadas pelas células T CD8, e esses indivíduos são mais resistentes à doença pelo HIV. Geram-se anticorpos neutralizantes contra a proteína gp120. Os vírus revestidos por anticorpos podem ser infecciosos; no entanto, são absorvidos pelos macrófagos.

O HIV tem várias maneiras de escapar ao controle imunológico. Mais significativa é a capacidade do vírus para sofrer mutações e, consequentemente, para alterar a sua antigenicidade e escapar à eliminação pelos anticorpos. A infecção persistente de macrófagos e células T CD4 em repouso mantém o vírus em uma célula imunoprivilegiada e em células em tecidos imunoprivilegiados (p. ex., sistema nervoso central e órgãos genitais) (Tabela 54-3). Em última análise, a infecção de células T CD4 compromete todo o sistema imunitário.

Epidemiologia

A AIDS foi primeiramente descrita em homens homossexuais nos Estados Unidos, mas se disseminou em proporções epidêmicas na população mundial (Figs. 54-11 e 54-12; Quadro 54-3). Embora o número continue aumentando, a partir de 2014, a taxa de crescimento tem estabilizado em decorrência das campanhas de prevenção.

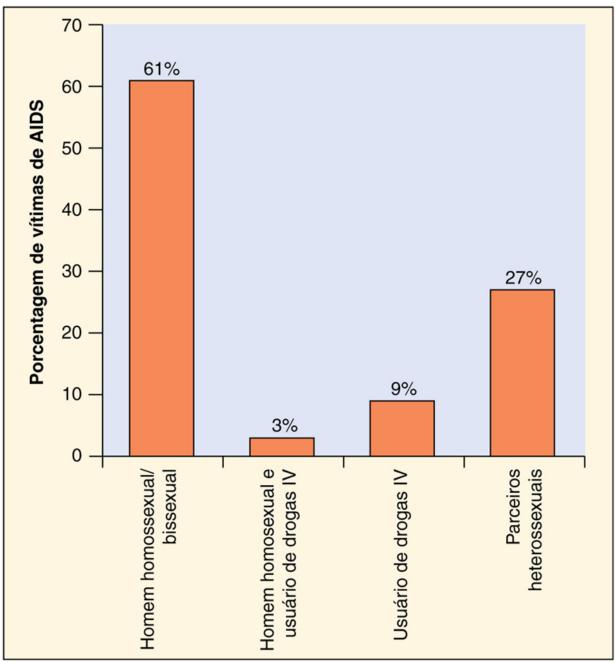


FIGURA 54-11 Estatísticas relacionadas com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) nos Estados Unidos até 2011. As porcentagens de casos de AIDS estão apresentadas por categoria de exposição para homens, mulheres e crianças com menos de 13 anos. Nos Estados Unidos, ao contrário da África e outras partes do mundo, os homens homossexuais representam a categoria de maior exposição. Entretanto, usuários de drogas intravenosas (IV) e parceiros heterossexuais estão se tornando mais prevalentes. (De Centers for Disease Control and Prevention: HIV in the United States: at a glance.www.cdc.gov/hiv/resources/factsheets/us.htm. Acesso: 29 abr., 2015.)

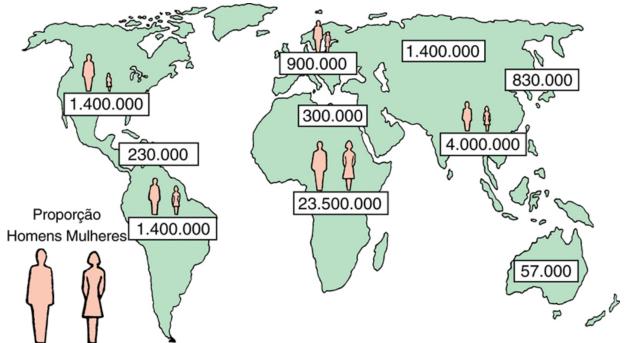


FIGURA 54-12 Estimativas (limite superior) do número de pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) no fim de 2011. A estimativa cumulativa global total de adultos infectados pelo HIV em 2011 foi de aproximadamente 34 milhões: mais de 7.000 novas infecções por dia e 2,5 milhões de mortes. As taxas de infecção variam amplamente em diferentes regiões do mundo. As maiores taxas ocorrem na África subsaariana. (Modificado de UNAIDS Report on the global AIDS Epidemic

2012.www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120_unaids_global_report_2012_with_annexes _en.pdf. Acesso: 3 jun., 2014.)



Quadro 54-3 Epidemiologia das Infecções pelo Vírus da Imunodeficiência

Humana (HIV)

Fatores Virais da Doença

O vírus envelopado é facilmente inativado, mas pode ser transmitido por líquidos corporais.

A doença apresenta longo período prodrômico.

O vírus pode ser liberado antes do desenvolvimento de sintomas identificáveis.

Transmissão

O vírus está presente no sangue, no sêmen e nas secreções vaginais.

Ver a Tabela 54-4 relativa aos modos de transmissão.

Quem Está sob Risco?

Usuário de drogas intravenosas, pessoas sexualmente ativas com muitos parceiros (HSH e heterossexuais), prostitutas, neonatos de mães HIV--positivas, parceiros sexuais de indivíduos infectados.

Receptores de sangue e órgãos transplantados e hemofílicos que receberam doação de sangue antes de 1985 (antes dos programas de pré-triagem).

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Há uma epidemia mundial em expansão.

Não há incidência sazonal, ou seja, ocorre o ano todo.

Meios de Controle

Drogas antivirais limitam a progressão da doença.

As vacinas para prevenção e tratamento estão sob ensaios clínicos.

O sexo seguro e monogâmico ajuda a limitar a disseminação.

Sempre devem ser utilizadas agulhas de injeção estéreis.

Circuncisão.

Devem ser estabelecidos programas de triagem em larga escala para transfusões de sangue, transplantes de órgãos e fatores de coagulação usados por hemofílicos.

O HIV-1 é geneticamente mais similar ao vírus da imunodeficiência do chimpanzé. Já o HIV-2 é mais semelhante ao vírus da imunodeficiência símia. A primeira infecção humana ocorreu na África antes de 1930, porém passou despercebida nas áreas rurais. A migração de pessoas infectadas para as cidades e o aumento do uso de seringas não estéreis após os anos 1960, trouxe o vírus para os grandes centros populacionais, tendo a aceitação cultural da prostituição contribuído para sua disseminação através da população.

Distribuição Geográfica

As infecções por HIV-1 estão se disseminando pelo mundo todo, com o maior número de casos de AIDS na África subsaariana, mas um número crescente de casos está sendo relatado na Ásia, nos Estados Unidos e no resto do mundo (Fig. 54-12). O HIV-2 é mais prevalente na África (especialmente na África ocidental) do que nos Estados Unidos e em outras partes do mundo. O HIV-2 produz uma doença semelhante à AIDS, porém com menor gravidade. A transmissão heterossexual é a principal forma de disseminação do HIV-1 e do HIV-2 na África, sendo homens e mulheres igualmente acometidos por esses vírus. As diferentes variantes de HIV-1 têm diferentes distribuições geográficas ao redor do mundo.

Apesar de raros, há casos de sobreviventes em longo prazo. Esses casos resultam da infecção com variantes de HIV que não possuem uma proteína Nef funcional. A proteína Nef é necessária para promover a progressão da infecção pelo HIV para a fase de AIDS. A resistência ao vírus também se correlaciona com a ausência ou mutação do correceptor de quimiocina CCR5 para o vírus ou com tipos específicos de HLA que promovem respostas de células T citotóxicas mais vigorosas.

Transmissão

A presença do HIV em sangue, sêmen e secreções vaginais de pessoas infectadas, aliada ao longo e assintomático período de infecção são fatores que têm promovido a disseminação da doença por meio do contato sexual e da exposição a sangue contaminado e seus produtos (Tabela 54-4). Fetos e recém-nascidos comumente adquirem o vírus da mãe infectada. O HIV, contudo, *não* é transmitido por contato casual, toque, abraço, beijo, tosse, espirro, picadas de insetos, água, comida, utensílios, toaletes, piscinas ou banhos públicos.



Tabela 54-4

Transmissão da Infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana

Vias	Transmissão Específica		
Vias Conhecidas de	Vias Conhecidas de Transmissão		
Inoculação no sangue	Transfusão de sangue e produtos sanguíneos		
	Compartilhamento de agulhas entre usuários de drogas intravenosas		
	Acidente com objetos perfurocortantes, ferida aberta e exposição de membrana mucosa em profissionais da saúde		
	Agulhas de tatuagem		
Transmissão sexual	Penetração anal e vaginal		
Transmissão perinatal	Transmissão intrauterina		
	Transmissão periparto		
	Leite materno		
Vias Não Envolvidas na Transmissão			
Contato pessoal	Membros da família		
próximo	Profissionais da saúde não expostos a sangue		

Populações sob Alto Risco

Pessoas sexualmente ativas (homens que fazem sexo com homens [HSH] e homens e mulheres heterossexuais), usuários de drogas intravenosas e seus parceiros sexuais e recém-nascidos de mães HIV positivas estão sob alto risco de infecções por HIV, sendo pessoas negras e hispânicas representadas de forma desproporcional na população HIV-positiva.

Conforme observado, a AIDS foi inicialmente descrita em homens jovens, promíscuos e homossexuais, sendo ainda prevalente na comunidade *gay*. O sexo anal é um meio eficiente de transmissão viral. Contudo, a transmissão heterossexual por penetração vaginal e o uso abusivo de drogas intravenosas têm se tornado as principais vias pelas quais o HIV está se disseminando na população mundial. A prevalência do HIV em usuários de drogas resulta do compartilhamento de agulhas de seringas contaminadas, uma prática comum em lugares frequentados por dependentes. Somente em Nova York, mais de 80% dos usuários de drogas intravenosas possuem anticorpos contra HIV, e essas pessoas constituem, atualmente,

a principal fonte de transmissão heterossexual e congênita do vírus. Agulhas ou tintas para tatuagem contaminadas são outros meios potenciais pelos quais o HIV pode ser transmitido.

Antes de 1985, pessoas que recebiam transfusões sanguíneas ou transplantes de órgãos e hemofílicos que recebiam fatores de coagulação de bancos de sangue estavam sob alto risco de infecção por HIV. O HIV foi disseminado em muitos países por profissionais de saúde compartilhando agulhas de seringas ou utilizando instrumentos esterilizados de forma inadequada. O teste adequado em bolsas de sangue e em tecidos de transplantes, tanto nos Estados Unidos como em outras partes do mundo, tem praticamente eliminado o risco de transmissão do HIV por meio de transfusões sanguíneas (Fig. 54-12). Hemofílicos que recebem os fatores de coagulação são protegidos, ainda, pelo tratamento adequado desses fatores (aquecimento prolongado), no intuito de matar o vírus, ou pelo uso de proteínas geneticamente modificadas.

Profissionais de saúde estão sob risco de infecção pelo HIV pela ocorrência de acidentes com objetos perfurocortantes ou pela exposição da pele lesada e membranas mucosas ao sangue contaminado. Felizmente, estudos envolvendo vítimas de acidentes com perfurocortantes têm mostrado que a soroconversão ocorre em menos de 1% das vítimas expostas ao sangue HIV-positivo.

Síndromes Clínicas

A AIDS é uma das epidemias mais devastadoras já relatadas. A maioria das pessoas infectadas pelo HIV se torna sintomática, e a maior parte perecerá à doença se não for tratada. A doença por HIV progride de uma enfermidade assintomática não específica para uma profunda imunossupressão, denominada AIDS (Caso Clínico 54-1; Fig. 54-9). As doenças relacionadas com a AIDS consistem principalmente em infecções oportunistas, cânceres e efeitos diretos do HIV no sistema nervoso central (Tabela 54-5).



Caso Clínico 54-1 Um Caso no Princípio de HIV-AIDS

Elliott e colaboradores (Ann Int Med 98:290-293, 1983) relataram que, em julho de 1981, um homem de 27 anos queixouse de disúria, febre, calafrios, suores noturnos, fraqueza, dispneia, tosse com escarro branco, anorexia e perda de peso de 7 kg. Nos últimos 7 anos, ele vinha recebendo até 4 infusões mensais de concentrado do fator VIII para corrigir sua hemofilia. Não esteve exposto a nenhum outro fator de risco para a infecção por HIV. Em agosto, infiltrados pulmonares eram visíveis pela radiografia do tórax e em setembro testes sanguíneos foram realizados com os seguintes resultados: hemoglobina 10,7 g/dL, leucócitos 4.200/µL, com 50% de polimorfonucleares, 2% de formas em bastão, 36% de linfócitos e 12% de monócitos. Estavam presentes anticorpo imunoglobulina G contra citomegalovírus, vírus Epstein-Barr, Toxoplasma, antígeno de superfície para hepatite B e antígeno do núcleo da hepatite C. Deficiência imune foi sugerida por falta de resposta aos testes cutâneos para tuberculina, caxumba e Candida. A presença de Pneumocystis jirovecii em uma coloração metenamina prata de um espécime de biópsia pulmonar transbronquial fez com que se iniciasse o tratamento oral com trimetoprim/sulfametoxazol. Os episódios de Candida albicans resultaram em tratamento com cetoconazol. Em maio de 1982, o desenvolvimento de esplenomegalia e linfadenopatia levou o paciente a admissão ao hospital, com contagem de leucócitos de 2.100/μL e de linfócitos de apenas 11%. Nesse período, Mycobacterium aviumintracellulare foi detectado na medula óssea, nos linfonodos e granulomas, e a contagem total de linfócitos era de 448/µL, comparada com um valor normal de 2.668/µL; os níveis não eram responsivos à estimulação por mitógenos. Em julho de 1982, a contagem total de linfócitos caiu para 220/µL, com 45/µL de células T CD3 positivas (normal 1.725 e 64, respectivamente) e uma relação CD4:CD8 de 1:4 (normal 2,2:1). O paciente continuou a deteriorar e morreu no fim de setembro de 1982. Citomegalovírus foi isolado do pulmão e do fígado e M. avium-intracellulare, da maioria das amostras de tecidos. Em 1981, a AIDS era uma doença recentemente descrita, e o HIV não tinha sido descoberto. Anticorpos monoclonais e imunofenotipagem eram tecnologias novas. O paciente adquiriu a infecção por HIV do concentrado de fator VIII em um momento anterior à triagem rotineira de suprimentos sanguíneos.



Doenças Indicadoras da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Infecção	Doença	
Infecções Oportunistas		
Protozoárias	Toxoplasmose cerebral	
	Criptosporidiose com diarreia	
	Isosporíase com diarreia	
Fúngicas	Candidíase do esôfago, traqueia e pulmões	
	Pneumonia por <i>Pneumocystis jirovecii</i> (previamente chamado de <i>Pneumocystis carinii</i>)	
	Criptococose (extrapulmonar)	
	Histoplasmose (disseminada)	
	Coccidioidomicose (disseminada)	
Virais	Citomegalovirose	
	Infecção por vírus do herpes simples (persistente ou disseminada)	
	Leucoencefalopatia multifocal progressiva (vírus JC)	
	Tricoleucoplasia causada por vírus Epstein-Barr	
Bacterianas	Complexo Mycobacterium avium-intracellulare (disseminado)	
	Qualquer doença micobacteriana "atípica"	
	Tuberculose extrapulmonar	
	Septicemia por Salmonella (recorrente)	
	Infecções bacterianas piogênicas (múltiplas ou recorrentes)	
Neoplasias Oportunistas	Sarcoma de Kaposi	
	Linfoma cerebral primário	
	Linfomas Hodgkin e não-Hodgkin	
	Cânceres associados ao HPV	
Outras	Síndrome caquética por HIV	
	Encefalopatia por HIV	
	Pneumonia intersticial linfoide	

Modificado de Belshe RB: Textbook of human virology, ed 2, St Louis, 1991, Mosby.

HIV, Vírus da imunodeficiência humana; HPV, papilomavírus humano.

Os sintomas iniciais após a infecção por HIV (fase aguda, 2-4 semanas após a infecção) podem se assemelhar aos da gripe ou da mononucleose infecciosa, com meningite "asséptica" ou um exantema ocorrendo até três meses após a infecção (Quadro 54-4). Como na mononucleose pelo EBV, os sintomas surgem da resposta das células T a uma infecção generalizada das células apresentadoras de antígenos (macrófagos). Esses sintomas desaparecem espontaneamente após 2-3 semanas e são seguidos por período de infecção assintomática ou linfadenopatia generalizada persistente, que pode durar vários anos. Durante esse período, o vírus se replica nos linfonodos.



Quadro 54-4 Resumo Clínico

Um paciente de 32 anos, ex-viciado em heroína, apresentou doença semelhante à mononucleose durante duas semanas. Teve recaída com sudorese noturna ocasional e febre por 3 anos, e manifestou aftas, retinite por citomegalovírus e pneumonia pneumocística. Sua contagem de células T CD4 foi $50/\mu$ L. Ele iniciou terapia antirretroviral altamente ativa.

A deterioração da resposta imune é indicada por aumento da suscetibilidade a patógenos oportunistas. O início dos sintomas se correlaciona com redução no número de células T CD4 para menos de 500/μL e níveis aumentados do vírus (quando determinados por técnicas relacionadas com reação em cadeia da polimerase [PCR]) e da proteína p24 no sangue. A AIDS plena ocorre quando a **contagem de células T CD4 é menor que 200**/μL (frequentemente 50/μL ou indetectável),

^{*} Manifestações da infecção por HIV que definem a síndrome da imunodeficiência adquirida, conforme os critérios dos Centers for Disease Control and Prevention.

a **carga viral é maior que 75.000 cópias/mL** e envolve o início de doenças mais significativas, incluindo a síndrome caquética por HIV (perda de peso e diarreia > 1 mês) e infecções oportunistas, neoplásicas e demência (ver Tabela 54-5).

A AIDS pode se manifestar de muitas maneiras diferentes, incluindo linfadenopatia e febre, infecções oportunistas, tumores e demência relacionada com a doença.

Linfadenopatia e Febre

Linfadenopatia e febre se desenvolvem de maneira insidiosa e podem ser acompanhadas por perda de peso e mal-estar. Esses achados podem progredir ou persistir indefinidamente. Os sintomas também podem incluir infecções oportunistas, diarreia, sudorese noturna e fadiga. A síndrome caquética é chamada de **doença do emagrecimento** na África.

Infecções Oportunistas

Infecções normalmente benignas por agentes como *Candida albicans* e outros fungos, vírus de DNA capazes de causar doença recorrente, parasitas e bactérias de crescimento intracelular provocam doenças significativas após a depleção das células T CD4 pelo HIV e subsequente redução de células T CD8 (Tabela 54-5). A **pneumonia pneumocística** (**PCP**) **induzida por** *Pneumocystis jirovecii* é um sinal característico da AIDS. Candidíase oral, toxoplasmose cerebral e meningite criptocócica também ocorrem com frequência, assim como infecções virais prolongadas e graves, incluindo poxvírus do molusco contagioso, papovavírus (vírus JC causando leucoencefalopatia multifocal progressiva) e reativações por herpes-vírus (p. ex., vírus do herpes simples, vírus varicela-zóster, vírus Epstein-Bar [EBV; tricoleucoplasia oral e linfomas associados com EBV] e citomegalovirus [especialmente retinite, pneumonia e doença colônica]). Tuberculose e outras doenças micobacterianas e diarreia provocada por patógenos comuns (espécies de *Salmonella, Shigella* e *Campylobacter*) e agentes incomuns (criptosporídios, micobactérias e espécies de *Amoeba*) também são problemas recorrentes.

Neoplasias

O tumor mais notável que se desenvolve em pacientes com AIDS é o sarcoma de Kaposi, associado com HHV8, um câncer de pele raro e normalmente benigno que se dissemina envolvendo órgãos viscerais de pacientes imunocomprometidos. Os linfomas relacionados com EBV também são prevalentes.

Demência Relacionada com a AIDS

A demência relacionada com a AIDS pode resultar de infecção oportunista ou da infecção de macrófagos e células da micróglia do cérebro pelo HIV. Pacientes com essa condição podem sofrer lenta deterioração de suas capacidades intelectuais e apresentar outros sinais de transtorno neurológico, semelhantes aos dos estágios iniciais da doença de Alzheimer. A deterioração neurológica pode resultar do desenvolvimento de uma das muitas infecções oportunistas.

Diagnóstico Laboratorial

Testes para detectar a infecção por HIV são realizados por uma de quatro razões: (1) identificar indivíduos com a infecção nos quais a terapia medicamentosa antiviral possa ser iniciada; (2) identificar portadores que possam transmitir a infecção a outros (especialmente doadores de sangue ou órgãos, gestantes e parceiros sexuais); (3) acompanhar o curso da doença e confirmar o diagnóstico de AIDS; ou (4) avaliar a eficácia do tratamento (Tabela 54-6).



Análise Laboratorial do Vírus da Imunodeficiência Humana

Teste	Propósito	
Sorologia		
Ensaio imunoabsorvente ligado a enzima	Triagem inicial	
Aglutinação em látex	Triagem inicial	
Teste oral rápido de anticorpos	Triagem inicial	
Análise por Western blot (para anticorpos)	Teste confirmatório	
RT-PCR para RNA do vírion	Detecção do vírus no sangue	
RT-PCR em tempo real	Quantificação do vírus no sangue	
DNA de cadeia ramificada (ensaio b-DNA)	Quantificação do vírus no sangue	
Antígeno p24	Marcador inicial da infecção	
Isolamento viral	Teste pouco disponível	
Contagem de células T CD4, proporção entre CD4:CD8	Indicadores de doença pelo HIV	

DNA, Ácido desoxirribonucleico; HIV, vírus da imunodeficiência humana; RNA, ácido ribonucleico; RT-PCR, reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa.

A natureza crônica da doença permite o uso de testes sorológicos para documentar a infecção do HIV, às vezes auxiliados por detecção e quantificação do genoma por meio de técnicas que envolvem PCR ou outras técnicas de biologia molecular. Infelizmente, testes sorológicos não podem identificar indivíduos recém-infectados. O HIV é muito difícil de ser isolado em cultivo celular, e, portanto, o isolamento viral não é rotineiramente realizado. Infecção recente ou doença no estágio terminal é caracterizada pela presença de grandes quantidades de RNA viral em amostras de sangue, do antígeno viral p24 ou da enzima RT (Fig. 54-9).

Genômica

Novos métodos de detecção e quantificação do genoma do HIV no sangue se tornaram a linha mestra para a determinação do estágio da infecção pelo HIV, da eficácia e da adesão do paciente à terapia antiviral. Após a conversão do RNA viral em DNAc com a enzima transcriptase reversa (fornecida pelo laboratório), o DNAc do genoma pode ser detectado por PCR e quantificado por PCR em tempo real, pela amplificação do DNA em cadeia ramificada (*branched-chain DNA amplification ou bDNA*) e outros métodos (Cap. 5). A determinação da carga viral (quantidade de genoma viral no sangue) é excelente indicador do estágio da doença e da eficácia do tratamento.

Sorologia

O rastreio dos doadores de sangue e de órgãos é realizado por sorologia, apesar da sua incapacidade para detectar uma infecção recente. Anticorpos contra o HIV podem ser gerados lentamente, levando 4-8 semanas na maioria dos pacientes; entretanto, pode levar 6 meses ou mais em até 5% dos infectados (Fig. 54-9). Técnicas de ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA) ou de aglutinação são utilizadas rotineiramente para triagem sorológica. O teste de ELISA, no entanto, pode gerar resultados falsos positivos. A análise por *Western blot* é utilizada para confirmação dos resultados positivos no ELISA. O teste de *Western blot* (Caps. 5 e 39, Fig. 39-7) demonstra a presença de anticorpos contra antígenos (p24 ou p31) e glicoproteínas (gp41 e gp120/160) virais. Estão disponíveis testes rápidos de rastreio que detectam o antígeno p24 e/ou anticorpos anti-HIV no sangue.

Estudos Imunológicos

O estágio de infecção pelo HIV pode ser determinado pela análise das subpopulações de células T. O número absoluto de linfócitos T CD4 e a razão de linfócitos CD4/CD8 são anormalmente baixos em pessoas infectadas pelo HIV. A concentração particular de linfócitos T CD4 identifica o estágio da AIDS. A decisão de iniciar o tratamento é normalmente baseada na contagem de células T CD4.

Tratamento, Prevenção e Controle

As principais terapias anti-HIV (até 2014) estão listadas no Quadro 54-5. As drogas anti-HIV aprovadas pela Food and Drug Administration dos Estados Unidos podem ser classificadas como inibidores da ligação, da fusão-penetração, integrase ou protease, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos ou inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos.



Quadro 54-5 Terapias Antivirais Potenciais contra a Infecção por HIV

Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos (NRTIs)

Azidotimidina (AZT) (Zidovudina) [Retrovir®]

Didesoxinosina (ddl) (Didanosina) [Videx®]

d4T (Estavudina) [Zerit®]

3TC (Lamivudina) [Epivir®]

Fumarato de tenofovir desoproxila (classe de adenosina) [Viread®]

ABC (Abacavir) [Ziagen®]

FTC (Entricitabina) [Emtriva®]

Inibidores da Transcriptase Reversa não Nucleosídeos (NNRTIs)

Nevirapina [Viramune®]

Delaviridina [Rescriptor®]

Efavirenz [Sustiva®]

Etravirena [Intelence®]

Rilpivirina [Edurant®]

Inibidores de Proteases (PIs)

Tipranavir [Aptivus®]

Darunavir [Prezista®]

Ritonavir [Norvir®]

Indinavir [Crixivan®]

Nelfinavir [Viracept®]

Fosamprenavir [Lexia®]

Atazanavir [Reyataz®]

Inibidores de Ligação e Fusão

Inibidor de CCR5 (maraviroc) [Selzentry®]

T-20 (enfuvirtida) [Fuzeon®]

Inibidor de Integrase

Raltegravir [Isentress®]

Exemplos de Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART)

Efavirenz/tenofovir/entricitabina (EFV/TDF/FTC) [Atripla®]*

Abacavir/zidovudina/lamivudina [Trizivir®]

Dolutegravir/abacavir/lamivudina [Triumeq®]*

Emtricitabina, rilpivirina e tenofovir disoproxil fumarato [Complera®]*

Elvitegravir/cobicistat/tenofovir/emtricitabina [Stribild®]*

 $\label{lem:modification} \begin{tabular}{l} Modificado de www.fda.gov/ForConsumers/byAudience/ForPatientAdvocates/HIVandAIDSActivities/ucm118915.htm e http://aidsinfo.nih.gov/education-materials/fact-sheets/21/58/fda-approved-hiv-medicines. \end{tabular}$

A inibição da ligação do HIV ao correceptor CCR5 com o uso de um agonista (maraviroc) ou da fusão entre o envelope viral e a membrana celular por um peptídeo (T-20: enfuvirtida) que bloqueia a ação da molécula gp41 impede o início da infecção. A inibição da integrase previne todos os eventos subsequentes na replicação do vírus. A inibição da RT impede o início da replicação viral, bloqueando a síntese de DNAc. A azidotimidina (AZT) e outros análogos de nucleosídeos são fosforilados por enzimas celulares e são incorporados ao DNAc pela RT, provocando a terminação da cadeia de DNA. Inibidores da RT não nucleosídeos (nevirapina) inibem a enzima por outros mecanismos. Inibidores de protease bloqueiam a morfogênese do vírion por inibir a clivagem das poliproteínas Gag e Gag-Pol. As proteínas virais e o vírion resultante são inativos. A maioria das drogas anti-HIV tem significantes efeitos colaterais e a busca por novas drogas anti-HIV continua. Cada uma das etapas do ciclo replicativo e todas as proteínas virais estão sendo visadas como alvos no desenvolvimento de novas drogas anti-HIV.

O AZT foi a primeira terapia anti-HIV bem-sucedida. Embora ainda seja ministrado para crianças nascidas de mães HIV-positivas durante seis semanas após o parto, o uso isolado do AZT ou outro análogo de nucleotídeo como monoterapia está em declínio. A terapia anti-HIV é atualmente administrada como um coquetel de várias drogas antivirais, sendo denominada **terapia antirretroviral altamente ativa (HAART)** (Quadro 54-5). O uso de uma mistura de drogas com

^{*} Um comprimido completo, regime de medicação uma vez por dia.

diferentes mecanismos de ação apresenta potencial menor de selecionar para a resistência viral. A terapia multidroga pode reduzir os níveis sanguíneos do vírus próximo a zero e reduzir a morbidade e mortalidade em muitos pacientes com AIDS avançada. Essas drogas são muitas vezes difíceis de tolerar, e cada droga tem seus próprios efeitos colaterais. A personalização do HAART para cada paciente pode minimizar os efeitos colaterais dos medicamentos, facilitar o esquema de ingestão e permitir que o paciente retome a saúde e estilo de vida quase normal. Alguns esquemas HAART são combinados em uma única pílula, facilitando a adesão ao tratamento. O tratamento deve ser iniciado por indivíduos apresentando sintomas de AIDS, doenças oportunistas comuns na AIDS, ou quando as células T CD4 diminuirem abaixo de $350/\mu$ L. A terapia também pode ser considerada quando a carga viral estiver muito alta (> 100.000), mesmo se os valores de CD4 estiverem acima de $350/\mu$ L. A terapia é também sugerida para profilaxia pós-exposição (p. ex., acidentes com agulha), se o HIV for detectado no paciente-fonte. A HAART é cara e pode exigir uso de várias pílulas por dia.

Educação

A principal maneira pela qual a infecção por HIV pode ser controlada é educar a população sobre os métodos de transmissão e as medidas que podem reduzir a disseminação viral. Por exemplo, relacionamentos monogâmicos, prática de sexo seguro e uso de preservativos reduzem a possibilidade de exposição. Uma vez que agulhas contaminadas são as principais causas de infecção por HIV em usuários de drogas intravenosas, as pessoas devem aprender que agulhas não devem ser compartilhadas. A reutilização de agulhas contaminadas em clínicas foi a fonte de surtos de AIDS na antiga União Soviética e em outros países. Em alguns lugares, esforços têm sido feitos no sentido de fornecer equipamento estéril para usuários de drogas intravenosas. Uma campanha bem-sucedida de educação anti-HIV em Uganda tem sido citada como mais efetiva do que as drogas antivirais em salvar vidas.

Triagem de Sangue, de Produtos Sanguíneos e de Órgãos

Potenciais doadores de sangue e órgãos são selecionados antes de doarem sangue, tecido e hemoderivados. Aqueles com testes positivos para HIV não podem doar sangue. Pacientes que antecipam a necessidade futura de sangue, como os que aguardam cirurgia eletiva, devem considerar a doação antecipada de sangue. Para limitar a epidemia mundial, a triagem de sangue deve ser realizada também em nações em desenvolvimento.

Controle de Infecção

Os procedimentos de controle de infecção por HIV são os mesmos utilizados para o vírus da hepatite B. Estes incluem precauções universais para o uso de sangue e fluidos corporais, baseados na presunção de que todos os pacientes podem estar infectados pelo HIV ou outros patógenos transmissíveis pelo sangue. As precauções incluem uso de vestimentas protetoras (p. ex., luvas, máscara, avental) e utilização de outras barreiras para prevenir a exposição ao sangue ou seus derivados. Seringas e instrumentos cirúrgicos nunca devem ser reutilizados, a menos que tenham sido cuidadosamente esterilizados. Superfícies contaminadas devem ser desinfetadas com água sanitária doméstica a 10%, etanol ou isopropanol a 70%, glutaraldeído a 2% e formaldeído a 4% ou peróxido de hidrogênio a 6%. A lavagem de roupas com água quente e detergente é suficiente para inativar o HIV.

Abordagens de Profilaxia

Há muitas dificuldades em desenvolver uma vacina anti-HIV. Uma vacina bem-sucedida deve ser capaz de bloquear a infecção inicial e o transporte das células dendríticas e células T infectadas para os linfonodos. Caso contrário, como os herpes-vírus, a infecção pelo HIV estabelece rapidamente infecção crônica ou latente. A vacina deve ainda induzir anticorpos neutralizantes e imunidade mediada por células. O principal alvo de anticorpos neutralizantes, a gp120, é diferente para as inúmeras variantes de HIV e até mesmo dentro de um subtipo; há muitos mutantes antigenicamente distintos que sofrem alterações durante a infecção de um indivíduo. A imunidade celular é necessária porque o vírus pode ser transmitido pela disseminação célula a célula e permanece latente, esquivando-se assim dos anticorpos. Finalmente, o teste da vacina é difícil e caro porque um grande número de pessoas sensíveis deve ser avaliado e um longo período de acompanhamento é necessário para monitorar a eficácia de cada formulação.

Várias abordagens já foram testadas para o desenvolvimento de vacina contra o HIV. As vacinas vivas atenuadas (p. ex., por meio da deleção do gene *nef*) eram muito perigosas por causarem a doença em crianças e permitirem o estabelecimento da infecção crônica. Vacinas de subunidades contendo a proteína gp120 ou o seu precursor, a gp160, por si sós, induziram apenas anticorpos contra uma única variante de HIV e não foram bem--sucedidas. As vacinas mais recentes contra HIV utilizam duas abordagens: inicialmente, visam à resposta primária das células T pela expressão do gene para gp160 (*env*) e outros genes de HIV utilizando vetores virais: o vírus vacínia, o poxvírus de canários ou um adenovírus defectivo ou vetores de expressão eucarióticos (plasmídeos) atuando como vacina de DNA. Em seguida, uma segunda dose, contendo a proteína gp120 ou a gp160, é ministrada para ativar as células B e o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes. As proteínas gp120 e gp160 são geneticamente modificadas e expressas em diferentes sistemas de células eucarióticas (p. ex., leveduras, baculovírus).

A incorporação de uma droga anti-HIV em cremes contraceptivos demonstrou certa capacidade para reduzir a transmissão do HIV. A circuncisão dos homens reduz o risco de infecção; a circuncisão elimina um local de infecções frequentes e um microbioma único que pode provocar fissuras na pele e inflamação que, em conjunto, podem aumentar a suscetibilidade à infecção pelo HIV.

Vírus Linfotrópico de Células T Humanas e Outros Retrovírus Oncogênicos

Os vírus da subfamília Oncovirinae, originalmente chamados de **vírus tumorais de RNA**, têm sido associados com o desenvolvimento de leucemias, sarcomas e linfomas em vários animais. Esses vírus não são citolíticos. Os membros dessa família são diferenciados pelo seu mecanismo de transformação celular (imortalização) e pela manutenção de período de latência entre a infecção e o desenvolvimento da doença (Tabela 54-7).



Tabela 54-7

Mecanismos de Oncogênese dos Retrovírus

Doença	Velocidade	Efeito
Leucemia aguda ou sarcoma	Rápida: oncogene	Efeito direto Fornecimento de proteínas promotoras do crescimento
Leucemia	Lenta: transativação	Efeito indireto Proteína de transativação (Tax) ou promotores das sequências terminais repetidas longas que aumentam a expressão dos genes de multiplicação celular

Os vírus da leucemia aguda e do sarcoma têm incorporado versões modificadas de genes celulares (proto-oncogenes) que codificam fatores controladores do crescimento em seus genomas (*v-onc*). Estes incluem genes que codificam hormônios de crescimento, receptores de hormônios de crescimento, proteínas quinases, proteínas ligadas ao trifosfato de guanosina (proteínas G) e proteínas nucleares de ligação ao DNA. Esses vírus podem causar a transformação relativamente rápida das células e são altamente oncogênicos. *Nenhum vírus humano desse tipo foi identificado até o momento*.

Pelo menos 35 diferentes oncogenes virais foram identificados (Tabela 54-8). A transformação resulta da superprodução ou atividade alterada do produto da proteína estimuladora de crescimento codificada pelo oncogene. O aumento do crescimento celular promove a transcrição, que também provoca replicação viral. A incorporação do oncogene em muitos desses vírus ocasiona a substituição das sequências codificadoras dos genes *gag*, *pol* ou *env*, de forma que a maioria desses vírus se torna defectiva, necessitando de vírus auxiliares para a replicação. Muitos desses vírus se tornam endógenos e então são transmitidos verticalmente por intermédio da linhagem germinativa do animal.



Tabela 54-8

Exemplos Representativos de Oncogenes

Função	Oncogene	Vírus
Tirosina quinase	Src	Vírus do sarcoma de Rous
	Abl	Vírus da leucemia murina de Abelson
	Fes	Vírus do sarcoma felino ST
Receptores de fatores de crescimento	Erb-B (receptor de EGF)	Vírus da eritroblastose aviária
	Erb-A (receptor de hormônio tireoidiano)	Vírus da eritroblastose aviária
Proteínas ligadas ao trifosfato de guanosina	Ha-ras	Vírus do sarcoma murino de Harvey
	Ki-ras	Vírus do sarcoma murino de Kirsten
Proteínas nucleares	Мус	Vírus da mielocitomatose aviária
	Муь	Vírus da mieloblastose aviária
	Fos	Vírus do osteossarcoma murino FBJ
	Jun	Vírus do sarcoma aviário 17

 $\textit{EGF}, \ \mathsf{Fator} \ \mathsf{de} \ \mathsf{crescimento} \ \mathsf{epid\acute{e}rmico}; \ \textit{FBJ}, \ \mathsf{Finkel\text{-}Biskis\text{-}Jinkins}; \ \textit{ST}, \ \mathsf{Synder\text{-}Theilen}.$

Os vírus da leucemia, incluindo o HTLV-1, são competentes em termos de replicação, mas não podem transformar células *in vitro*. Eles causam câncer após **longo período de latência** de pelo menos 30 anos. Os vírus da leucemia promovem crescimento celular de maneiras mais indiretas do que os vírus que codificam oncogenes. No caso do HTLV-1, um regulador transcricional, Tax, após produzido é capaz de ativar promotores na região LTR e genes celulares específicos (incluindo genes controladores de crescimento e de citocinas, como aqueles que codificam a IL-2 e o fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos) para promover a proliferação descontrolada daquela célula. Alternativamente, ao se integrarem próximo aos genes controladores do crescimento celular, sequências gênicas amplificadoras e promotoras codificadas pela região LTR viral podem promover a expressão de proteínas estimuladoras de crescimento. A

transformação neoplásica necessária para causar a leucemia requer outras alterações genéticas que são mais prováveis de ocorrer em razão da multiplicação estimulada nas células infectadas. Esses vírus estão também associados a distúrbios neurológicos não neoplásicos e outras doenças. Por exemplo, o HTLV-1 ocasiona a leucemia linfocítica aguda de células T do adulto (ATTL, do inglês, adult acute T-cell lymphocytic leukemia) e a mielopatia associada com o HTLV-1 (paraparesia espástica tropical), uma doença neurológica não oncogênica.

Os oncovírus humanos incluem o HTLV-1, o HTLV-2 e o HTLV-5, mas somente o HTLV-1 tem sido definitivamente associado a doença (p. ex., ATLL). O HTLV-2 foi isolado de formas atípicas de tricoleucemia e o HTLV-5 foi isolado de linfoma cutâneo maligno. O HTLV-1 e o HTLV-2 compartilham até 50% de homologia.

Patogênese e Imunidade

O HTLV-1 está associado a células e é disseminado dentro das células por meio de transfusão sanguínea, atividade sexual ou amamentação. O vírus penetra na corrente sanguínea e infecta as células T CD4 auxiliares. Além do sangue e dos órgãos linfáticos, essas células T têm tendência a se localizar na pele, contribuindo para os sintomas da ATLL. Os neurônios também expressam um receptor para o HTLV-1.

O HTLV é competente para replicação, desde que os genes *gag*, *pol* e *env* sejam transcritos, traduzidos e processados, como descrito anteriormente. Além disso, para executar sua ação sobre os genes virais, a proteína Tax transativa os genes celulares para o fator de crescimento de células T, IL-2 e seu receptor (IL-2R), que induzem proliferação da célula infectada. Uma proteína celular, a HBZ, limita a atividade de Tax, promovendo a sobrevida da célula. O vírus pode permanecer latente ou se replicar lentamente durante muitos anos, mas pode também induzir uma expansão clonal descontrolada de determinados clones de células T.

Há longo período de latência (≈ 30 anos) até o surgimento de leucemia. Embora o vírus possa induzir expansão policional descontrolada de células T, a leucemia de células T do adulto induzida pelo HTLV-1 é normalmente monoclonal.

Anticorpos são induzidos contra a gp46 e outras proteínas do HTLV-1. A infecção pelo HTLV-1 também causa imunossupressão.

Epidemiologia

O HTLV-1 é transmitido e adquirido pelas mesmas rotas que o HIV. É endêmico no sul do Japão, no Caribe, na África central e entre afro-americanos do sudeste dos Estados Unidos. Nas regiões endêmicas do Japão, as crianças adquirem o HTLV-1 no nascimento e das suas mães na amamentação, enquanto os adultos são infectados sexualmente. A frequência de pessoas soropositivas em algumas regiões do Japão pode chegar a 35% (Okinawa), com o dobro da mortalidade por leucemia comparada a outras regiões. O uso abusivo de drogas intravenosas e a transfusão de sangue estão se tornando as vias mais importantes de transmissão do vírus nos Estados Unidos, onde os grupos de alto risco para a infecção por HTLV-1 são os mesmos para a infecção por HIV.

Síndromes Clínicas

A infecção pelo HTLV é usualmente assintomática, mas pode progredir para ATLL em torno de uma a cada 20 pessoas ao longo de um período de 30-50 anos. A ATLL causada pelo HTLV-1 é uma neoplasia das células T CD4 auxiliadoras que pode ser aguda ou crônica. As células malignas têm sido chamadas "células em flor", porque são pleomórficas e contêm um núcleo lobulado. Além de contagem elevada de glóbulos brancos no sangue, essa forma de ATLL é caracterizada por lesões cutâneas similares às observadas em outra leucemia, a síndrome de Sézary. A ATLL é geralmente fatal dentro de um ano após o diagnóstico, independentemente do tratamento. O HTLV-1 pode também causar outras doenças, incluindo uveíte, dermatite infecciosa associada com HTLV e outros distúrbios inflamatórios.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção pelo HTLV-1 é detectada utilizando-se ELISA para pesquisar antígenos específicos do vírus no sangue ou reação em cadeia da polimerase após transcriptase reversa (RT-PCR) para detecção do RNA viral. Testes ELISA também podem ser utilizados para detectar anticorpos antivirais específicos.

Tratamento, Prevenção e Controle

Uma combinação de AZT e interferon-alfa tem sido efetiva em alguns pacientes com ATLL. Entretanto, nenhum tratamento específico foi aprovado para o manejo da infecção por HTLV-1.

As medidas utilizadas para limitar a disseminação do HTLV-1 são as mesmas para limitar a transmissão pelo HIV. Precauções sexuais, triagem de suprimentos sanguíneos e aumento da atenção quanto aos riscos potenciais e às doenças são maneiras de prevenir a transmissão do vírus. Triagens de rotina para HTLV-1, HIV, vírus da hepatite B e vírus da hepatite C são realizadas para proteger os suprimentos de sangue. Todavia, a transmissão materna para uma criança é muito difícil de ser controlada.

Retrovírus Endógenos

Diferentes retrovírus se integraram aos cromossomos humanos e animais, tornando-se parte deles. De fato, as sequências de retrovírus podem compor até 8% do genoma humano. Sequências completas ou parciais de provírus, contendo sequências gênicas similares àquela de HTLV, vírus de tumor mamário de camundongo e outros retrovírus, podem ser identificadas em humanos. Esses vírus endógenos geralmente perdem a capacidade de se replicar em decorrência de deleções ou inserções de códons de terminação ou porque eles são fracamente transcritos. Um retrovírus pode ser detectado no tecido placentário e é ativado durante a gestação. Esse vírus produz sincitina, necessária para facilitar a função placentária. Outro retrovírus endógeno tem sido associado ao câncer de próstata.

Referências Bibliográficas

Caldwell JC, Caldwell P. The African AIDS epidemic. Sci Am. 1996;274:62-68.

Centers for Disease Control and Prevention. Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *MMWR Morb Mortal Recomm Rep.* 2001;50(RR–11):1–42.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Doltch G, Cavrois M, Lassen KG, et al. Abortive HIV infection mediates CD4 T cell depletion and inflammation in human lymphoid tissue. *Cell*. 2010;143:789–801.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Kräusslich HG. Morphogenesis and maturation of retroviruses. Berlin: Springer-Verlag; 1996.

Levy JA. HIV and the pathogenesis of AIDS. ed 7 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2007.

Morse SA, Ballard RC, Holmes KK, et al. Atlas of sexually transmitted diseases and AIDS. ed 3 St Louis: Mosby; 2003.

Ng VL, McGrath MS. Human T-cell leukemia virus involvement in adult T-cell leukemia. Cancer Bull. 1988;40:276–280.

Oldstone MBA, Vitkovic L. HIV and dementia. Berlin: Springer-Verlag; 1995.

Ryan FP. Human endogenous retroviruses in health and disease: a symbiotic perspective. J R Soc Med. 2004;97:560–565.

Stine GJ. AIDS update 2011. New York: McGraw-Hill; 2011.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Sites sobre HIV/AIDS e HTLV

About.com: AIDS/HIV. http://aids.about.com/. Acessado em 29 de abril de 2015.

AIDS Education Global Information System: Homepage. www.aegis.com. Acessado em 29 de abril de 2015.

Bennett NJ: HIV disease. http://emedicine.medscape.com/article/211316-overview. Acessado em 29 de abril de 2015.

Centers for Disease Control and Prevention: HIV/AIDS statistics and

surveillance. www.cdc.gov/hiv/library/reports/surveillance/index.html. Acessado em 18 de maio de 2015.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases: NIAID's HIV/AIDS research

program. www.niaid.nih.gov/topics/hivaids/Pages/Default.aspx. Acessado em 29 de abril de 2015.

National Institutes of Health: http://aidsinfo.nih.gov/. Acessado em 29 de abril de 2015.

Szczypinska EM, Wallace MR, Wainscoat B, et al: Human T-cell lymphotropic viruses. http://emedicine.medscape.com/article/219285-overview. Acessado em 29 de abril de 2015.

UNAIDS: Data and analysis. www.unaids.org/en/dataanalysis/. Accessed May 18, 2015.

UNAIDS: Homepage. www.unaids.org/. Acessado em 29 de abril de 2015.

University of California, San Francisco: HIV InSite. http://hivinsite.ucsf.edu. Acessado em 29 de abril de 2015.

U.S. Department of Health and Human Services: Clinical guidelines portal: federally approved HIV/AIDS medical practice guidelines. http://aidsinfo.nih.gov/guidelines. Acessado em 29 de abril de 2015.

The White House: National HIV/AIDS strategy for the United States. www.whitehouse.gov/sites/default/files/uploads/NHAS.pdf. Acessado em 2 de julho de 2015.

Sites sobre a terapia contra HIV

Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents: Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/AdultandAdolescentGL.pdf. Acessado em 29 de abril de 2015.

Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents: *Tables from* Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1–infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/AA_Tables.pdf. Acessado em 29 de abril de 2015.

World Health Organization: Rapid advice: antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents, November 2009. www.who.int/hiv/pub/arv/rapid_advice_art.pdf. Acessado em 29 de abril de 2015.

CAPÍTULO 55

Vírus da Hepatite

Uma mulher de 43 anos queixou-se de fadiga, náuseas e desconforto abdominal. Ela também apresentava um pouco de febre, urina amarelo-escura e abdome sensível e distendido. Testes sorológicos demonstraram a presença anticorpos tipo imunoglobulina (Ig)M e antígeno do núcleo da hepatite B (HBcAg), além da presença do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e o antígeno Be da hepatite B (HBeAg). Ela também tinha anticorpos IgG contra o vírus da hepatite A.

- 1. Quais são os aspectos comuns às hepatites e quais são específicos para o vírus da hepatite B (HBV)?
- 2. Como a sorologia define o curso da doença?
- 3. Como essa infecção é transmitida?
- 4. Como essa infecção poderia ser evitada e tratada?

Um homem de 41 anos, usuário de drogas por via intravenosa, queixou-se de fadiga, náuseas e desconforto abdominal. Teve um pouco de febre, a urina era amarelo-escura e o abdome estava sensível e distendido. Testes sorológicos comprovaram a presença de anticorpos IgG para o HBsAg, mas não antígenos do vírus da hepatite B ou outros anticorpos anti-HBV. A análise do soro por meio da reação em cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR) detectou o genoma do vírus da hepatite C.

- 5. Esta pessoa está infectada pelo HBV? Ou esta pessoa já esteve infectada com o HBV?
- 6. Qual é a evolução mais provável da doença para este paciente e para outros pacientes com essa infecção?
- 7. Como essa infecção pode ser tratada?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Vírus da Hepatite

Palavras-gatilho

Hepatite A: início agudo/repentino, picornavírus, fecal-oral

Hepatite B: transmissão pelo sangue, DST, hepadnavírus, transcriptase reversa, crônica, partícula de Dane, HBsAg

Hepatite C: crônica, DST, flavivírus

Hepatite D: defectivo, vírus auxiliar da hepatite B, doença fulminante

Hepatite E: fecal-oral, início agudo/repentino, mulheres grávidas

Biologia, Virulência e Doença

- A doença hepática define os sintomas
- Vírus não líticos: a imunidade mediada por células causa a sintomatologia
- Hepatite A: picornavírus não lítico, início agudo, ausência de sequelas
- Hepatite B: hepadnavírus, envelopado e codifica a transcriptase reversa
 - Doença seguida pela sorologia
 - Doença crônica em 5% do tempo, sobretudo nas crianças
 - Risco para carcinoma hepatocelular primário (CHP)
- Hepatite C: flavivírus
 - Causa doença crônica em 70% dos pacientes
 - Risco de CHP e cirrose após um período longo
- Hepatite D: semelhante a um viroide, requer o HBV como vírus auxiliar
- Hepatite E: vírus semelhante ao calicivírus, início agudo, ausência de sequelas, doença grave nas mulheres grávidas

Epidemiologia

- HAV, HEV: transmissão fecal-oral
- HBV, HCV, HDV: disseminação através do sangue, tecidos e sêmen; DSTs

Diagnóstico

• RT-PCR, ELISA

Tratamento, Prevenção e Controle

- HAV: vacina inativada, higiene
- HEV: higiene
- HBV: vacina HBsAg com partículas semelhantes ao vírus, rastreio de fornecimento de sangue, sexo seguro, fármacos antivirais
- HCV: rastreio de fornecimento de sangue, sexo seguro, fármacos antivirais
- HDV: imunização para HBV

O alfabeto das hepatites virais inclui pelo menos seis vírus, de A até E e G (Tabela 55-1; um resumo divertido é fornecido no Quadro 55-1). Embora o órgão-alvo para cada um deles seja o fígado e os sintomas básicos da hepatite sejam similares, esses vírus são significativamente diferentes em sua estrutura, modo de replicação, modo de transmissão, tempo de duração da doença e sequelas que causam. Os vírus da hepatite A e da hepatite B (HAV, HBV) são os vírus da hepatite clássica, e os vírus da hepatite C, D, E e G (HCV, HDV [agente delta], HEV, HGV) são chamados de vírus da hepatite não A, não B (NANBH). Outros vírus também podem causar hepatites.



Tabela 55-1

Características Comparativos dos Vírus da Hepatite

Característica	Hepatite A	Hepatite B	Hepatite C	Hepatite D	Hepatite E
Nome comum	"Infecciosa"	"Do soro"	"Não A, não B pós- transfusão"	"Agente delta"	"Não A, não B entérica"
Estrutura do vírus	Picornavírus; capsídeo, RNA (+)	Hepadnavírus; envelope, DNA	Flavivírus; envelope, RNA (+)	Semelhante a viroides; envelope, RNA circular	Semelhante à calicivírus; capsídeo, RNA (+)
Transmissão	Fecal-oral	Parenteral, sexual	Parenteral, sexual	Parenteral, sexual	Fecal-oral
Início	Abrupto	Insidioso	Insidioso	Abrupto	Abrupto
Período de incubação (dias)	15-50	45-160	14-180+	15-64	15-50
Gravidade	Leve	Ocasionalmente grave	Geralmente subclínica; 70% de cronicidade	Coinfecção com HBV às vezes grave; superinfecção com HBV frequentemente grave	Pacientes normais, leve; gestantes, intensa
Mortalidade	< 0,5%	1%-2%	≈ 4%	De alta a muito alta	Pacientes normais: 1%-2%; gestantes: 20%
Cronicidade/estado de portador	Não	Sim	Sim	Sim	Não
Outras associações da doença	Nenhuma	Carcinoma hepatocelular primário, cirrose	Carcinoma hepatocelular primário, cirrose	Cirrose, hepatite fulminante	Nenhuma
Diagnóstico laboratorial	Sintomas e IgM anti-HAV	Sintomas e níveis séricos de HBsAg, HBeAg e IgM anti- HBc	Sintomas e ELISA anti- HCV, teste do genoma	ELISA anti-HDV	_

DNA, Ácido desoxirribonucleico; ELISA, ensaio imunoabsorvente ligado a enzima; HAV, vírus da hepatite A; HBc, núcleo do vírus da hepatite B; HbeAg, antígeno Be do vírus da hepatite B; HBSAg, antígeno de superfície do vírus da hepatite B; HBV, vírus da hepatite B; HCV, vírus da hepatite C; HDV, vírus da hepatite D; IgM, imunoglobulina M; RNA, ácido ribonucleico.



Quadro 55-1 Tudo o Que Você Quer Saber Sobre os Vírus da Hepatite,

Segundo o Dr. Seuss; por K.S. Rosenthal

Hepatite A, B, C Hepatite D, E, G O fígado é o alvo Mas a resposta imune dói O fígado sofre de A a G

Come o vírus, ele não ficará E e A vão embora Fezes, água e mariscos, ponto ponto A É o vírus agudo que vai embora A mulher grávida teme o E É fatal, mas não para mim

B e C, e também D Sangue, tecido e sêmen podem transportar os três B e C permanecem comigo CHP com C e B Para o bebê, B crônica HBsAg você vai ver

Anti-HBs não mais doente As vacinas fazem isto, é o truque Trata a RT para o B Imuniza contra A ou B Negócio arriscado de A a G Olhos amarelos você vai ver

Cada um dos vírus da hepatite infecta e danifica o fígado, ocasionando os **sintomas clássicos de icterícia e a liberação de enzimas hepáticas**. O vírus específico causador da doença pode ser distinguido por sorologia, natureza e progressão da doença. Esses vírus têm se disseminado facilmente, pois as pessoas infectadas são contagiosas antes de apresentar os sintomas ou na ausência deles.

A hepatite A, às vezes conhecida como hepatite infecciosa, (1) é causada por um picornavírus, um vírus de ácido ribonucleico (RNA); (2) é disseminada pela via fecal-oral; (3) tem período de incubação de cerca de 1 mês, após o qual os sintomas de icterícia se manifestam abruptamente; (4) não causa doença hepática crônica; e (5) raramente é fatal.

A hepatite B, anteriormente conhecida como hepatite do soro, (1) é causada por um hepadnavírus com genoma de ácido desoxirribonucleico (DNA); (2) é disseminada por via parenteral, pelo sangue ou por agulhas contaminadas, porcontato sexual e por via perinatal; (3) tem período médio de incubação de aproximadamente 3 meses; após esse período, os sintomas ictéricos se manifestam insidiosamente; (4) é acompanhada de hepatite crônica em 5% a 10% dos pacientes; e (5) tem associação causal com carcinoma hepatocelular primário (CHP). Mais de um terço da população mundial já foi infectado com o HBV, resultando em 1 a 2 milhões de óbitos por ano. A incidência do HBV está diminuindo, especialmente em lactentes, por causa do desenvolvimento e uso da vacina de subunidade contra HBV.

O HCV também é prevalente em todo o mundo, com mais de 170 milhões de portadores da doença infectados de forma crônica. O HCV é disseminado pelas mesmas vias que o HBV, porém tem mais propensão para ocasionar doença crônica. O HCV também aumenta o risco para CHP. O HCV é um flavivírus com genoma de RNA. O HGV é também um flavivírus e causa infecções crônicas. O HEV é um vírus entérico não envelopado com o genoma de RNA, pertencente à sua própria família, e a doença provocada por esse vírus é semelhante à causada pelo HAV.

A hepatite D, ou hepatite delta, é peculiar, pois exige replicação ativa do HBV como "vírus auxiliar" e ocorre somente em pacientes portadores da infecção por HBV ativa. O HBV fornece o envelope para o RNA do HDV e seus antígenos. O HDV exacerba os sintomas causados pelo HBV.

Vírus da Hepatite A

O HAV causa hepatite infecciosa e se dissemina pela via fecal-oral. A fonte de infecção para esse vírus resulta, com frequência, do consumo de água, frutos do mar e outros alimentos contaminados. O HAV é um **picornavírus**, foi inicialmente denominado como *enterovírus* 72, e recentemente reclassificado dentro de um novo gênero, o *Heparnavirus*, com base em seu genoma único.

O HAV é um vírus **nu** (**não envelopado**), **com capsídeo icosaédrico** e 27 nm de diâmetro; possui um genoma de **RNA de fita simples** e polaridade positiva com cerca de 7.470 nucleotídeos (Fig. 55-1). Como um picornavírus, o genoma do HAV tem uma proteína VPg ligada à extremidade 5′ e uma sequência poliadenilada na extremidade 3′. O capsídeo é mais estável a ácidos e outros tratamentos em comparação aos demais picornavírus (Quadro 55-2). Existe apenas um sorotipo de HAV.

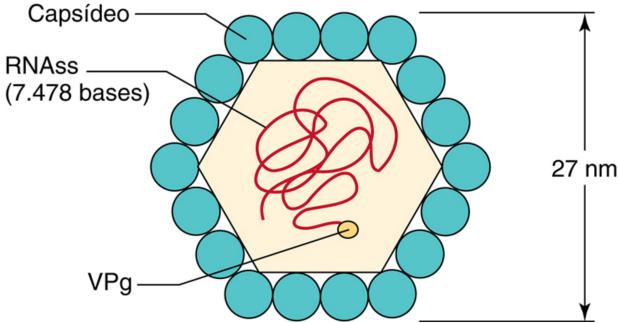


FIGURA 55-1 A estrutura de picornavírus do vírus da hepatite A. O capsídeo icosaédrico é constituído de quatro polipeptídeos virais (VP1 a VP4). Dentro do capsídeo há um RNA de fita simples e polaridade positiva (RNAss) que possui uma proteína viral genômica (VPg) na extremidade 5'.



Quadro 55-2 Características do Vírus da Hepatite A

Estável em:

Ácido em pH 1

Solventes (éter, clorofórmio)

Detergentes

Água salgada; lençóis freáticos (meses)

Dessecação (estável)

Temperatura:

4°C durante semanas: estável

56°C durante 30 minutos: estável

61°C durante 20 minutos: inativação parcial

Inativado por:

Tratamento da água potável com cloro

Formalina (0,35%, 37°C, 72 horas)

Ácido peracético (2%, 4 horas)

β-propiolactona (0,25%, 1 hora)

Radiação ultravioleta (2 μW/cm²/min)

Replicação

O HAV se replica como os outros picornavírus (Cap. 46). Ele interage especificamente, por meio da glicoproteína, com o receptor celular 1 (HAVCR-1, também conhecido como domínio de mucina e imunoglobulina de célula T [TIM-1]) expresso nas células hepáticas e em células T. A estrutura do HAVCR-1 pode variar de indivíduo para indivíduo, e formas específicas se correlacionam com a gravidade da doença. Entretanto, diferentemente dos outros picornavírus, o HAV não é citolítico e é liberado por exocitose. Isolados laboratoriais de HAV foram adaptados para crescer em cultivos celulares primários e linhagens contínuas oriundas de rins de macacos, mas isolados clínicos têm dificuldade de crescer em cultivo celular.

Patogênese

O HAV é ingerido e provavelmente penetra na corrente sanguínea pelo revestimento epitelial da orofaringe ou do intestino para atingir seu alvo, as células parenquimatosas do fígado (Fig. 55-2). O vírus se replica em hepatócitos e nas células de Kupffer, sendo posteriormente liberado na bile e daí para as fezes. O vírus é excretado em grande quantidade nas fezes, e isso ocorre cerca de 10 dias antes do aparecimento dos sintomas de icterícia ou da detecção do anticorpo.

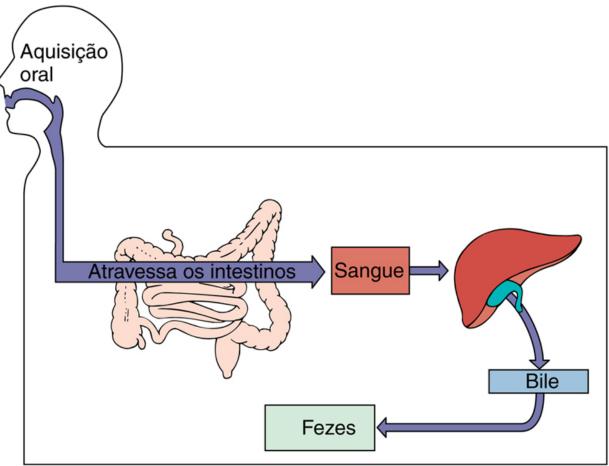


FIGURA 55-2 Disseminação do vírus da hepatite A no corpo.

O HAV replica-se lentamente no fígado sem produzir efeitos citopáticos aparentes. Embora o interferon limite a replicação viral, as células *natural killer* e as células T citotóxicas são exigidas para a eliminação das células infectadas. O anticorpo, o complemento e a citotoxicidade celular dependente de anticorpo também facilitam a remoção do vírus e a indução da imunopatologia. O quadro de icterícia resultante dos danos causados ao fígado ocorre quando as respostas imunes mediadas por células e anticorpos contra o vírus são detectadas. A proteção do anticorpo contra a reinfecção é duradoura.

A doença causada pela infecção por HAV é indistinguível histologicamente daquela causada pelo HBV. O quadro é mais comumente provocado pela imunopatologia e não pela citopatologia induzida pelo vírus. Todavia, **diferentemente do HBV, o HAV não pode iniciar infecção crônica** e não está associado a câncer hepático.

Epidemiologia

Cerca de 40% dos casos agudos de hepatite são causados por HAV (Quadro 55-3). O vírus se espalha facilmente em uma comunidade, pois a maioria das pessoas infectadas é contagiosa 10-14 dias antes do aparecimento dos sintomas. Ainda, 90% das crianças infectadas e entre 25% e 50% dos adultos infectados são portadores de infecções **produtivas, mas não aparentes**.



Quadro 55-3 Epidemiologia do Vírus da Hepatite A (HAV) e do Vírus da

Hepatite E (HEV)

Doença/Fatores Virais

Os capsídeos virais são muito resistentes à inativação.

O período contagioso se estende antes e até depois dos sintomas.

O vírus pode causar propagação assintomática.

Transmissão

O vírus pode ser transmitido pela via fecal-oral.

A ingestão de alimentos e água contaminada pode ocasionar infecção.

O HAV encontrado em frutos do mar é proveniente de água contaminada por esgoto.

O vírus pode ser transmitido por pessoal que manuseia alimentos, profissionais de creches e pelas crianças.

Quem Está sob Risco?

Pessoas em aglomerações humanas e em áreas sem saneamento

Viajantes a regiões de alto risco

Crianças: doença leve, possivelmente assintomática; as creches são uma das principais fontes de disseminação do HAV

Adultos: hepatite de início abrupto

Gestantes: mortalidade alta associada com HEV

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

O vírus é encontrado no mundo todo.

Não existe incidência sazonal.

Meios de Controle

Boa higiene

HAV: proteção passiva de anticorpos para contatos

Vacina de vírus inativo

Vacina de vírus vivo na China

O vírus é liberado nas fezes em concentrações elevadas e transmitido pela via **fecal-oral**. Dissemina-se por meio de água, alimentos contaminados e mãos sujas. O HAV é resistente a detergentes, ácidos (pH = 1) e temperaturas acima de 60° C, podendo sobreviver por muitos meses em água fresca ou salgada. Esgoto sanitário não tratado ou tratado de forma inadequada pode contaminar o suprimento de água e os frutos do mar. Esses alimentos, especialmente mariscos, ostras e mexilhões, são importantes fontes do vírus, pois se alimentam por filtração e podem concentrar as partículas virais, até mesmo de soluções diluídas. Isso pode ser exemplificado por epidemia de HAV ocorrida em Xangai, na China, em 1988, quando 300 mil pessoas foram infectadas com o vírus após do consumo de mariscos coletados em águas poluídas.

Os surtos de HAV se originam geralmente de uma fonte comum (p. ex., suprimento de água, restaurantes, creches). A excreção assintomática e o longo período de incubação (15-40 dias) tornam difícil a identificação da fonte. Os ambientes de creches são as fontes principais de disseminação do vírus entre colegas e seus pais. Outro problema adicional é o fato de que o número de crianças e funcionários que permanecem nesses locais pode ser transitório e, portanto, o número de contatos com risco de contrair a infecção por HAV em um único desses centros pode ser significativo.

As infecções pelo HAV são relativamente comuns, com maior incidência em más condições de higiene e aglomeração excessiva de pessoas. A maioria dos indivíduos infectados com o HAV nos países em desenvolvimento são crianças que apresentam uma doença moderada e que, posteriormente, permanecem imunes ao longo da vida contra a reinfecção. Nos Estados Unidos, a incidência diminuiu significativamente com o uso da vacina.

Síndromes Clínicas

Os sintomas causados pelo HAV são muito parecidos com os da infecção por HBV e resultam do dano hepático mediado pelo sistema imune. Os **sintomas ocorrem abruptamente** 15-50 dias após a exposição, intensificam-se durante 4-6 dias antes da fase ictérica e podem durar até dois meses (Fig. 55-3). Os sintomas iniciais incluem febre, fadiga, náuseas, perda de apetite, vômitos e dores abdominais. Urina escura (bilirrubinúria), fezes claras e icterícia podem ser acompanhadas de dor abdominal e prurido. Como observado, a doença é geralmente mais leve nas crianças que nos adultos, e é normalmente assintomática. A icterícia é observada em 70% a 80% dos adultos, mas apenas em 10% das crianças (com menos de 6 anos). Os sintomas geralmente diminuem durante o período de icterícia. Já a disseminação viral nas fezes precede em aproximadamente 14 dias o início dos sintomas e é interrompida antes do desaparecimento dos sintomas. A recuperação completa ocorre em 99% dos casos dentro de 2-4 semanas do início da doença.

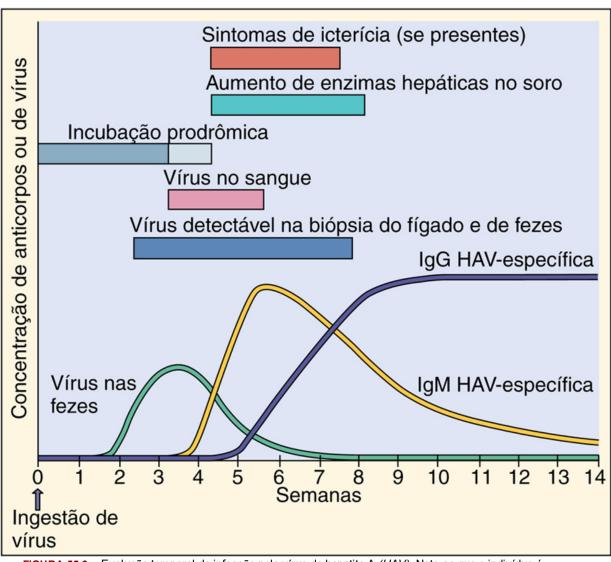


FIGURA 55-3 Evolução temporal da infecção pelo vírus da hepatite A (HAV). Note-se que o indivíduo é contagioso antes do início dos sintomas e que os sintomas se correlacionam com o início das respostas imunes. Ig, imunoglobulina.

A hepatite fulminante na infecção por HAV ocorre em 1 a 3 pessoas em cada 1.000 e está associada a uma taxa de mortalidade de 80%. Ao contrário do HBV, os sintomas associados à formação de complexos imunes (p. ex., artrite, erupção) raramente ocorrem em pessoas portadoras da doença por HAV.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da infecção por HAV é geralmente realizado com base na duração dos sintomas clínicos, na identificação de uma fonte de infecção conhecida e, de modo mais confiável, nos resultados dos testes sorológicos específicos. A melhor maneira de demonstrar uma infecção aguda por HAV é pelo achado de IgM anti-HAV, medida por ensaio imunossorvente ligado a enzima (ELISA) ou radioimunoensaio. O isolamento viral não é realizado, pois ainda não existe um sistema eficiente de cultivo celular para a multiplicação viral.

Tratamento, Prevenção e Controle

A transmissão do HAV é reduzida interrompendo-se a disseminação do vírus pela rota fecal-oral. Ao mesmo tempo, é preciso evitar o consumo de água ou alimentos potencialmente contaminados, em especial frutos do mar crus. A lavagem apropriada das mãos, sobretudo em creches, hospitais psiquiátricos e outras instalações de atendimento, é de vital importância. O tratamento da água potável com cloro geralmente é suficiente para matar o vírus.

A **profilaxia com globulina sérica imune** administrada antes ou logo no início do período de incubação (isto é, < 2 semanas após a exposição) tem eficácia de 80% a 90% na prevenção da doença clínica.

As vacinas mortas para o HAV são recomendadas para todas as crianças após completarem 1 ano e adultos com alto risco de infecção, incluindo os viajantes para áreas endêmicas, consumidores de drogas intravenosas e homens que fazem sexo com homens. A vacina é administrada em duas doses, com 6 meses de intervalo, e pode ser administrada com a vacina do HBV. Uma vacina viva contra o HAV está em uso na China. Existe apenas um sorotipo de HAV e esse vírus só infecta humanos, fatores que ajudam a assegurar o sucesso em um programa de imunização.

Vírus da Hepatite B

O HBV é o principal membro dos **hepadnavírus**. Outros membros dessa família (Quadro 55-4) incluem os vírus da hepatite B da marmota, esquilo e pato. Esses vírus possuem limitado tropismo por tecidos e gama de hospedeiros. O HBV infecta o fígado e, em menor escala, os rins e o pâncreas somente de seres humanos e chimpanzés. Os avanços em biologia molecular tornaram possível o estudo do HBV, apesar da gama limitada de hospedeiros para o vírus e da dificuldade representada pelos sistemas de cultivo celular utilizados na multiplicação viral.



Quadro 55-4 Propriedades Exclusivas dos Hepadnavírus

- O vírus é envelopado contendo um genoma circular de DNA de fita parcialmente dupla.
- A replicação ocorre por meio de um intermediário de RNA circular sobreposto.
- O vírus codifica e carrega uma transcriptase reversa.
- O vírus codifica várias proteínas (HBsAg [L, M, S]; HBe/HBc) que compartilham sequências genéticas, mas com iniciadores diferentes na estrutura.
- O HBV tem tropismo restrito pelo fígado.
- As células infectadas com HBV produzem e liberam grandes quantidades de partículas de HBsAg sem DNA.
- O genoma do HBV pode se integrar no cromossomo do hospedeiro.

DNA, ácido desoxirribonucleico; HBc, antígeno do core da hepatite B; HBe, antígeno Be da hepatite B; HBsAg, antígeno de superfície da hepatite B; HBV, vírus da hepatite B; RNA, ácido ribonucleico.

Estrutura

O HBV é um vírus de DNA envelopado, pequeno e com várias propriedades incomuns (Fig. 55-4). Especificamente, o genoma de DNA de fita parcialmente dupla é pequeno, circular e com apenas 3.200 bases. Embora seja um vírus de DNA, ele codifica uma transcriptase reversa e se replica por meio de um intermediário de RNA.

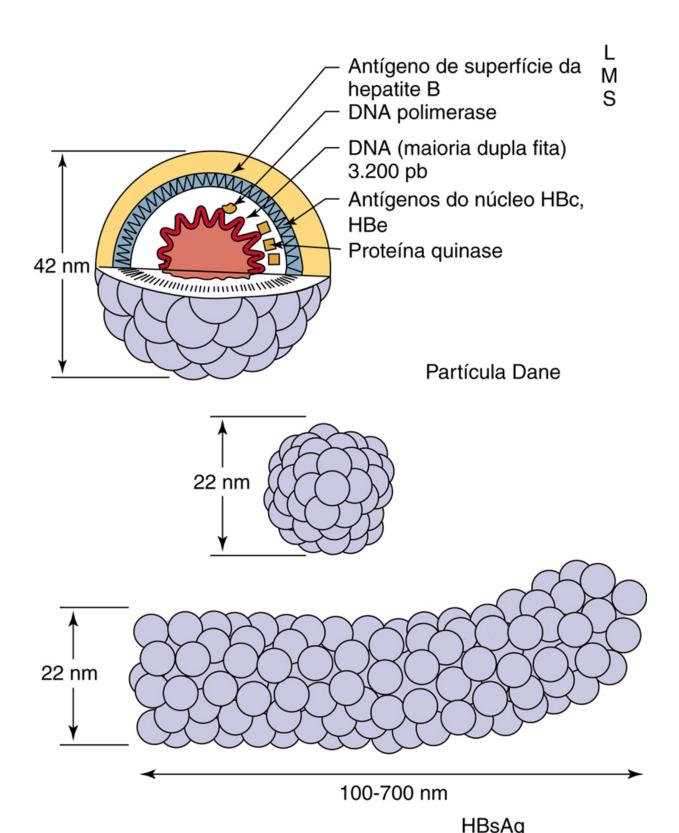


FIGURA 55-4 Vírus da hepatite B (partícula Dane) e partículas de antígeno de superfície da hepatite B (*HBsAg*). O HBsAg esférico consiste, principalmente, na forma S do HBsAg, com um pouco de M. O HBsAg filamentoso contém as formas S, M e L. *bp*, Pares de base; *DNA*, ácido desoxirribonucleico; *L*, gp42; *M*, gp36; *S*, gp27.

O vírion, também chamado de **partícula Dane**, apresenta 42 nm de diâmetro e sua estabilidade é incomum para um vírus envelopado. Ele resiste ao tratamento com éter, pH baixo, congelamento e aquecimento moderado. Essas características favorecem a transmissão da doença de pessoa a pessoa e dificultam a desinfecção.

O vírion do HBV carrega uma proteína quinase e uma polimerase com atividade de transcriptase reversa e de ribonuclease H, assim como uma proteína P ligada ao genoma. Todas essas estruturas são cercadas por um capsídeo icosaédrico formado pelo antígeno do núcleo do vírus da hepatite B (HBcAg, do inglês, hepatitis B core antigen) e por um envelope contendo três formas da glicoproteína antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg, hepatitis B surface antigen). Uma proteína do antígeno "e" do vírus da hepatite B (HBeAg, do inglês, hepatitis B "e" antigen) compartilha a maior parte da sequência proteica com o HBcAg, mas é processada de maneira diferente pela célula, excretada inicialmente no soro, não sendo capaz de automontagem (como um antígeno de capsídeo), e expressa determinantes antigênicos diferentes.

As partículas contendo HBsAg são liberadas no soro dos indivíduos infectados e superam o número total de vírions. Essas partículas podem ser esféricas (embora menores que a partícula Dane) ou filamentosas (Fig. 55-4). São imunogênicas e foram incluídas na primeira vacina comercial contra o HBV.

O HBsAg, originalmente denominado antígeno Austrália, inclui três glicoproteínas (L, M e S) codificadas pelo mesmo gene e lidas na mesma fase de leitura, mas traduzidas em proteínas de diferentes códons inicializadores AUG (adenina, uracila e guanina). A glicoproteína S (gp27; 24 a 27 kDa) está completamente contida na glicoproteína M (gp36; 33 a 36 kDa), que está contida na glicoproteína L (gp42; 39 a 42 kDa); e todas compartilham as mesmas sequências de aminoácido na extremidade carboxiterminal. Todas as três formas de HBsAg são encontradas no vírion. A glicoproteína S é o componente principal das partículas de HBsAg; por si só, ela se autoassocia a partículas esféricas de 22 nm que são liberadas das células. As partículas filamentosas do HBsAg encontradas no soro contêm principalmente essa glicoproteína S, mas também pequenas quantidades das glicoproteínas M e L, além de outras proteínas e lipídios. As glicoproteínas do HBsAg contêm os determinantes grupo-específicos (denominados a) e determinantes tipo-específicos (denominados d ou y e w ou r). As combinações desses antígenos (p. ex., adw, ayw, adr, ayr) resultam em oito subtipos de HBV que são marcadores epidemiológicos úteis.

Replicação

A replicação do HBV é única por várias razões (Quadro 55-4). Em primeiro lugar, o HBV tem tropismo distintamente definido para o fígado. Seu genoma pequeno também necessita de economia, como ilustrado pelo padrão de sua transcrição e tradução. Além disso, o HBV se replica por meio de um intermediário de RNA, produzindo e liberando partículas antigênicas (HBsAg) (Fig. 55-5).

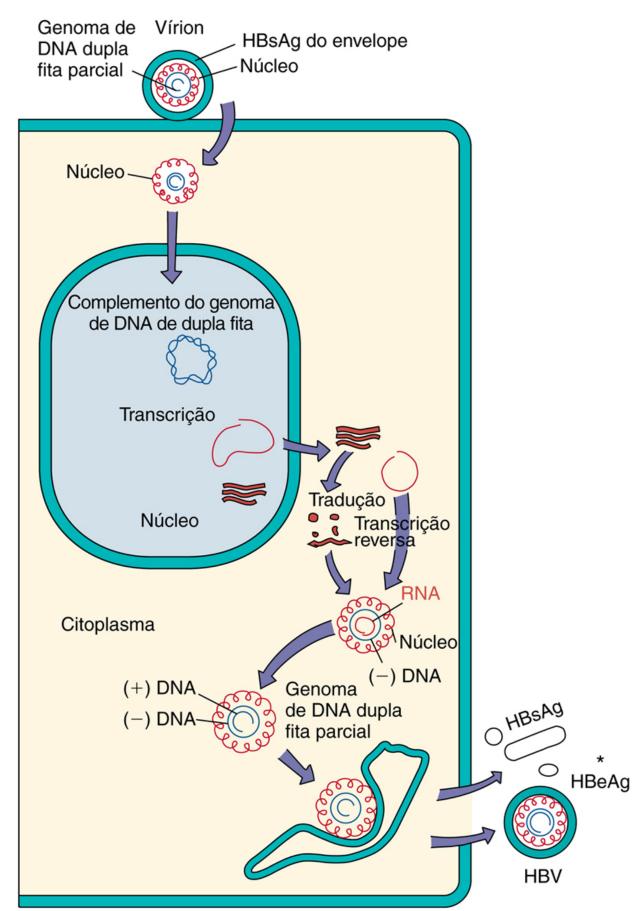


FIGURA 55-5 Replicação do vírus da hepatite B (HBV). Após penetrar no hepatócito e desnudar o nucleocapsídeo, a fita de ácido desoxirribonucleico (DNA) parcialmente dupla do genoma é liberada no núcleo e completada. A transcrição do genoma produz quatro RNAs mensageiros (RNAms), incluindo um RNAm maior que o genoma (3.500 bases). O RNAm então se move para o citoplasma e é traduzido em proteína. As proteínas do nucleocapsídeo se formam ao redor do RNAm de base 3.500 e o DNA de polaridade negativa é sintetizado pela transcriptase reversa no núcleo. O ácido ribonucleico (RNA) é degradado enquanto o DNA de polaridade positiva (+) é sintetizado. O núcleo (core) preenchido associa-se com membranas do retículo endoplasmático contendo HBsAg, é envolvido em um envelope antes da conclusão do DNA de polaridade positiva e é, então, liberado por exocitose com partículas contendo HBsAg. HBeAg, Antígeno Be da hepatite; HBsAg, antígeno de superfície da hepatite B.

A ligação do HBV aos hepatócitos é mediada por glicoproteínas HBsAg. Vários receptores celulares hepáticos têm sido sugeridos, incluindo o receptor de transferrina, o receptor da asialoglicoproteína e a anexina V hepática humana. O mecanismo de entrada é desconhecido, mas o HBsAg adere à albumina sérica humana polimerizada e a outras proteínas séricas; a ligação e a adsorção dessas proteínas podem facilitar a adsorção viral no fígado.

Ao penetrar na célula, o nucleocapsídeo entrega o genoma ao núcleo, onde a cadeia de DNA parcial do genoma é completada para formar um círculo completo de DNA de cadeia dupla. A transcrição do genoma é controlada por elementos de transcrição celular encontrados nos hepatócitos. O DNA é transcrito a partir de diferentes pontos de iniciação no genoma circular, mas sempre com a mesma extremidade 3′. Existem três classes principais (2.100, 2.400 e 3.500 bases) e duas menores (900 bases) de RNAs mensageiros com sobreposição (RNAms) (Fig. 55-6). O RNAm de 3.500 bases é maior do que o genoma. Ele codifica os antígenos HBc e HBe, a polimerase e um iniciador proteico para a replicação do DNA, e atua como molde para a replicação do genoma. O HBe e o HBc são proteínas relacionadas que são traduzidas de diferentes códons de iniciação (start codons), em fase, de RNAms intimamente associados. Isso causa diferenças em seu processamento e estrutura, com a liberação do HBe e a incorporação do HBc dentro do vírion. A proteína HBe retém uma sequência de sinal que a encaminha para o retículo endoplasmático e para a via secretora. De forma semelhante, o RNAm de 2.100 bases codifica as glicoproteínas pequena e média a partir de diferentes códons de iniciação em fase. O RNAm de 2.400 bases, que codifica a grande glicoproteína, sobrepõe-se ao RNAm de 2.100 bases. O RNAm de 900 bases codifica a proteína X, que promove a replicação viral como uma transativadora da transcrição e como proteína quinase.

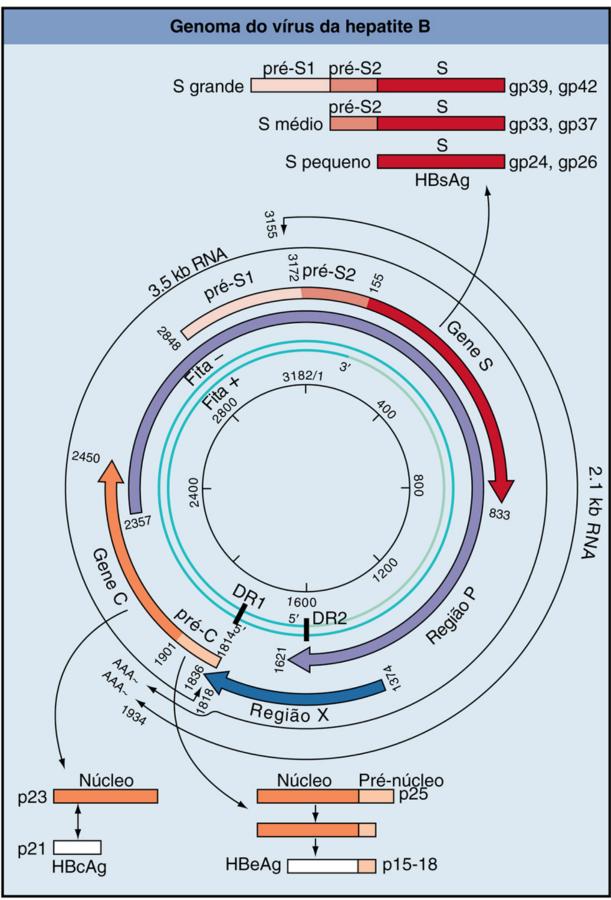


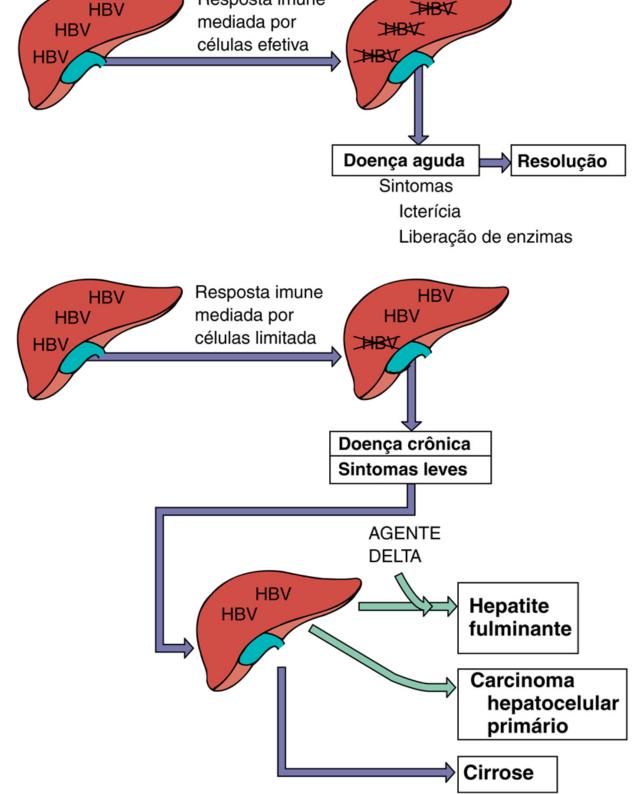
FIGURA 55-6 DNA, RNA, RNAm e proteínas do vírus da hepatite B. Os círculos internos verdes representam o genoma do DNA com o número do nucleotídeo no centro. DR1 e DR2 são sequências de repetição direta de DNA e são importantes para replicação e integração do genoma. O transcrito de 3.500 bases (*circulo externo de linha escura e fina*) é maior que o genoma e serve de molde para a replicação do genoma. Os arcos em negrito representam RNAm para proteínas virais. Observe-se que várias proteínas são traduzidas a partir do mesmo RNAm, mas de diferentes códons AUG e ocorre sobreposição de RNAms diferentes. *AAA*, cauda PoliA (poliadenilada) na extremidade 3'do RNAm; *AUG*, adenina, uracila e guanina; *C*, RNAm de C para antígeno do núcleo do vírus da hepatite B (HbcAg); *HBsAg*, antígeno de superfície do vírus da hepatite B; *I*, glicoproteína grande; *m*, glicoproteína média; *p*, iniciador da polimerase para replicação; *s*, glicoproteína pequena; *S*, RNAm para antígeno HBs; *X*, RNAm de X. (De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: *Infectious diseases*, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.)

A replicação do genoma usa o RNAm de 3.500 bases, maior do que o genoma. Esse RNAm é empacotado no nucleocapsídeo que contém a DNA polimerase dependente de RNA (proteína P). Essa polimerase possui atividade de transcriptase reversa e de ribonuclease H, mas falta ao HBV a atividade de integrase dos retrovírus. O RNA de 3.500 bases atua como molde e o DNA de polaridade negativa é sintetizado utilizando um iniciador proteico da proteína P, que permanece covalentemente ligada à extremidade 5′. Depois o RNA é degradado pela atividade da ribonuclease H como DNA de polaridade positiva e sintetizado a partir do molde de DNA de polaridade negativa. No entanto, esse processo é interrompido pelo envelopamento do nucleocapsídeo na membrana do retículo endoplasmático contendo HBsAg, capturando assim genomas que contêm uma cadeia de DNA circular completa e uma incompleta. O vírion e as partículas contendo HBsAg são então liberados do hepatócito por exocitose, sem matar a célula.

O genoma completo pode também ser integrado à cromatina da célula hospedeira. O HBsAg, e não outras proteínas, pode ser detectado, com frequência, no citoplasma de células contendo o DNA de HBV integrado. O significado do DNA integrado na replicação viral não é conhecido, mas o DNA viral integrado tem sido encontrado em carcinomas hepatocelulares.

Patogênese e Imunidade

O HBV pode causar doença aguda ou crônica, sintomática ou assintomática. A determinação de qual doença ocorrerá parece depender da resposta imune do indivíduo à infecção (Fig. 55-7).



Resposta imune

FIGURA 55-7 Principais determinantes da infecção aguda e crônica pelo vírus da hepatite B (HBV). O HBV infecta o fígado, mas não causa citopatologia direta. A lise das células infectadas ocasionada pela imunidade celular produz os sintomas e resolve a infecção. A imunidade insuficiente pode acarretar doença crônica por HBV, que predispõe a pessoa a consequências mais graves. As setas púrpura indicam os sintomas; as setas verdes indicam uma consequência possível.

A principal fonte de vírus infecciosos é o sangue, mas o HBV pode ser encontrado no sêmen, na saliva, no leite materno, nas secreções vaginais e menstruais e no fluido amniótico. A maneira mais eficiente de adquirir HBV é pela penetração do vírus na corrente sanguínea (Fig. 55-8). O contato sexual e o parto são rotas comuns de infecção, embora sejam menos eficientes. O vírus começa a replicar-se nos hepatócitos do fígado dentro de três dias após a aquisição, com efeito citopático mínimo. Os sintomas podem não ser observados por um período igual ou superior a 45 dias, porque os sintomas são causados principalmente por imunopatologia. A dose infecciosa, a via de infecção e o indivíduo são determinantes para o período de incubação. A infecção prossegue por um período de tempo relativamente longo, sem provocar danos no fígado (isto é, elevação dos níveis de enzimas do fígado) ou sintomas. Cópias do genoma do HBV integram-se na cromatina dos

hepatócitos e podem permanecer latentes. A acumulação intracelular de formas filamentosas de HBsAg pode produzir citopatologia com hepatócito em vidro fosco, característica da infecção por HBV. As partículas de HBsAg continuam a ser liberadas no sangue, mesmo após o fim da liberação de vírions e até que a infecção seja resolvida. *Um indivíduo é infeccioso quando tanto o componente HBsAg quanto o componente HBeAg do vírion podem ser detectados no sangue.*

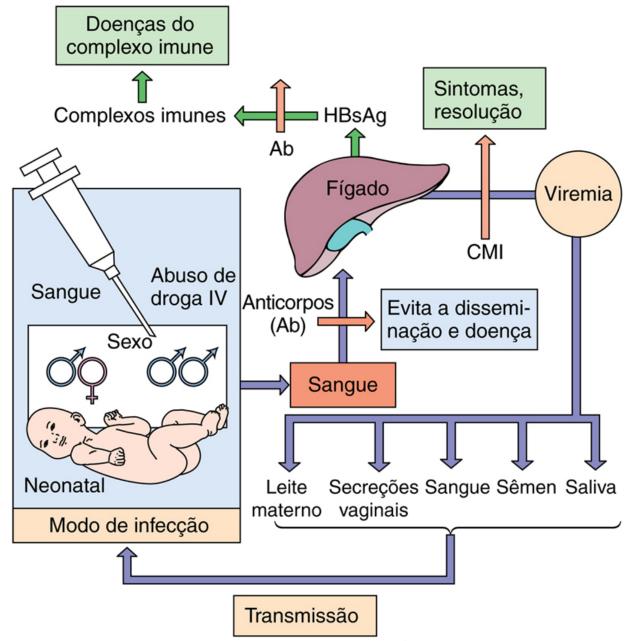


FIGURA 55-8 Disseminação do vírus da hepatite B (*HBV*) no corpo. A infecção inicial com *HBV* ocorre via parenteral, sexo sem proteção e parto. O vírus então se dissemina para o fígado, replica-se, induz viremia e é transmitido em várias secreções corporais, além do sangue, para reiniciar o ciclo. Os sintomas são provocados pela imunidade mediada por células (*CMI*) e por complexos imunes entre anticorpo e antígeno de superfície da hepatite B (*HBsAg*). *IV*, intravenoso.

A imunidade mediada por células e a inflamação são responsáveis por sintomas e resolução efetiva da infecção por HBV ao eliminar o hepatócito infectado. Resposta insuficiente das células T à infecção resulta, geralmente, na ocorrência de sintomas leves, na inabilidade de resolver a infecção e no desenvolvimento de hepatite crônica (Fig. 55-7). A infecção crônica também esgota as células T CD8 como forma de prevenir a morte das células infectadas. O anticorpo (como aquele gerado pela vacinação) pode proteger contra a infecção inicial ao prevenir a liberação do vírus no fígado. Mais tarde, com a progressão da infecção, a grande quantidade de HBsAg no soro adere aos anticorpos neutralizantes e e bloqueia sua ação, o que limita sua capacidade de resolver a infecção. Os complexos imunes formados entre o HBsAg e os anti-HBs contribuem para o desenvolvimento de reações de hipersensibilidade (tipo III), acarretando problemas como vasculite, artralgia, erupção cutânea e dano renal.

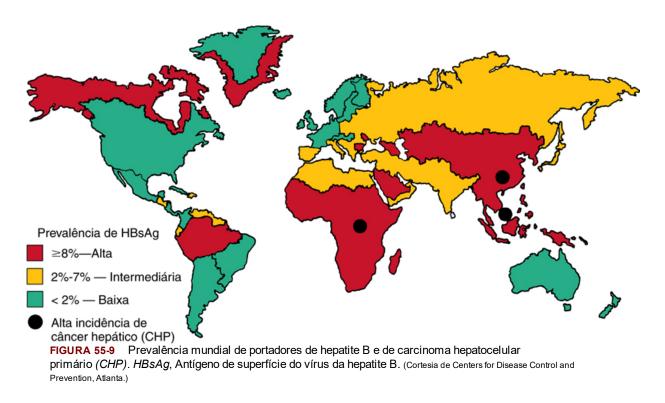
Anticorpos anti-HBc e anti-HBe estão presentes no soro, mas não são protetivos. A proteína HBeAg, como ocorre com a HBsAg, é liberada no soro, e, durante sua produção, anticorpos anti-HBe se ligam ao antígeno e não são detectáveis. O antígeno HBc está presente em células ou vírions e inacessível ao anticorpo no sangue. Como resultado, o anticorpo anti-HBc é detectável após produção, durante e após o curso da infecção.

Os lactentes e as crianças pequenas apresentam resposta imune mediada por células imatura e têm menos capacidade de resolver a infecção, mas sofrem menos dano tecidual e sintomas mais leves. Cerca de 90% dos lactentes infectados por via perinatal se tornam portadores crônicos do vírus. A replicação viral persiste nessas pessoas por longos períodos.

Durante a fase aguda da infecção, o parênquima hepático mostra alterações degenerativas consistindo em edema e necrose celular, especialmente nos hepatócitos que cercam a veia central de um lóbulo hepático. O infiltrado de células inflamatórias é composto principalmente de linfócitos. A resolução da infecção permite a regeneração do parênquima. As infecções fulminantes, a ativação de infecções crônicas ou a coinfecção com o agente delta podem resultar em dano hepático permanente e cirrose.

Epidemiologia

Nos Estados Unidos, mais de 12 milhões de pessoas foram infectadas com HBV (1 em 20) com 5.000 mortes por ano. No mundo, 1 em cada 3 pessoas já foi infectada com o HBV, com cerca de 1 milhão de mortes por ano. Mais de 350 milhões de pessoas no mundo possuem infecção crônica por HBV. Nas nações em desenvolvimento, aproximadamente 15% da população pode ser infectada durante o nascimento ou na infância. Taxas elevadas de soropositividade são observadas na Itália, na Grécia, na África e no sudoeste da Ásia (Fig. 55-9). Em algumas áreas do mundo (sul da na África e sudeste da Ásia), a taxa de soroconversão chega a 50%. O CHP, uma sequela de longo prazo da infecção, também é endêmico nessas regiões.



A grande quantidade de portadores crônicos assintomáticos com o vírus no sangue e em outras secreções do corpo estimula a disseminação do vírus. Nos Estados Unidos, de 0,1% a 0,5% da população geral é portadora crônica, mas essa proporção é muito baixa em comparação com as várias partes do mundo. O quadro de portador pode ser vitalício.

O vírus é disseminado por via sexual, parenteral e perinatal. A transmissão ocorre por meio do sangue contaminado e de componentes do sangue por transfusão, compartilhamento de agulhas, acupuntura, *piercings* da orelha ou tatuagem, ou então por contato pessoal íntimo envolvendo a troca de sêmen, saliva e secreções vaginais (p. ex., sexo, parto) (Fig. 55-8). Os trabalhadores da área da saúde correm risco de acidentes envolvendo picadas de agulhas ou instrumentos afiados. As pessoas com risco específico foram listadas no Quadro 55-5. A promiscuidade sexual e o uso abusivo de drogas são os principais fatores de risco para a infecção por HBV. Esse vírus pode ser transmitido aos bebês pelo contato com o sangue da mãe durante o parto e pelo leite materno. Os bebês nascidos de mães HBV positivas portadoras crônicas estão em risco mais alto de infecção. A triagem sorológica em indivíduos doadores em bancos de sangue tem reduzido significativamente o risco de aquisição do vírus de sangue ou de derivados de sangue contaminados. Hábitos sexuais mais seguros adotados para prevenir a transmissão do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e a administração da vacina contra o HBV também têm sido responsáveis pela redução nos casos de transmissão e incidência de HBV.



Usuários de drogas intravenosas

Pessoas com vários parceiros sexuais

Hemofílicos e outros pacientes que necessitam de tratamentos com transfusão de sangue e derivados de sangue

Profissionais da saúde que tenham contato com sangue

Residentes e auxiliares de instituições para pacientes psiquiátricos

Pacientes de hemodiálise e receptores de transfusões de sangue e de transplantes de órgãos

Uma das principais preocupações sobre o HBV é sua associação com o CHP. Esse tipo de carcinoma é, provavelmente, responsável por 250.000 a 1 milhão de mortes por ano no mundo todo; e nos Estados Unidos, cerca de 5.000 mortes por ano são atribuídas ao CHP.

Síndromes Clínicas

Infecção Aguda

Como observado, a apresentação clínica do HBV em crianças é menos intensa que em adultos e a infecção pode até ser assintomática. A doença clinicamente aparente ocorre em até 25% daqueles infectados com HBV (Figs. 55-10 a 55-12).

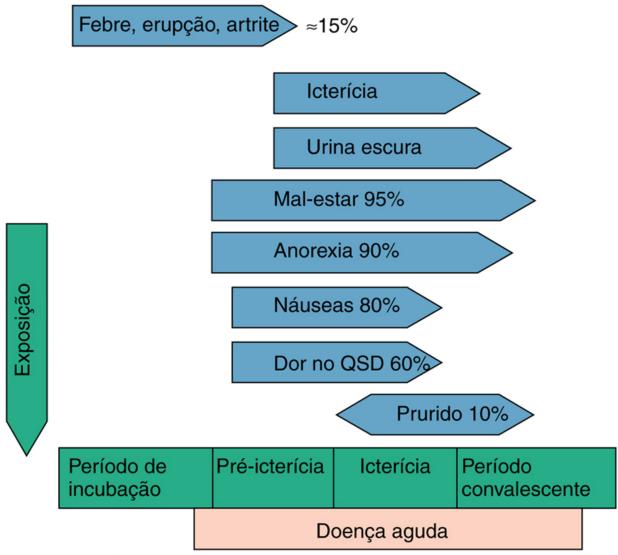


FIGURA 55-10 Os sintomas da infecção viral aguda típica de hepatite B estão correlacionados com os quatro períodos clínicos da doença. *QSD*, Quadrante superior direito. (Modificada de Hoofnagle JH: Type A and type B hepatitis, *Lab Med* 14:705-716, 1983.)

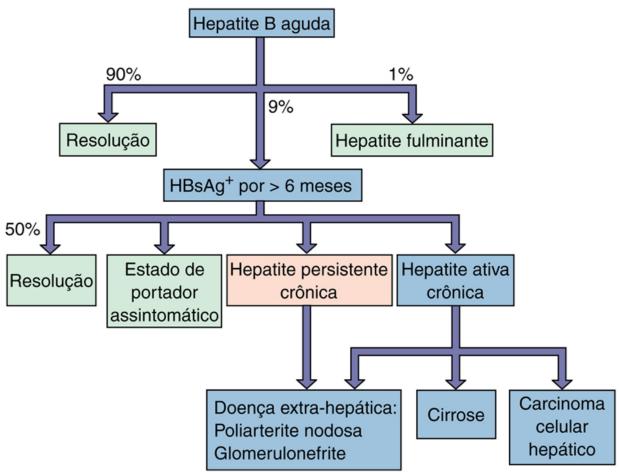
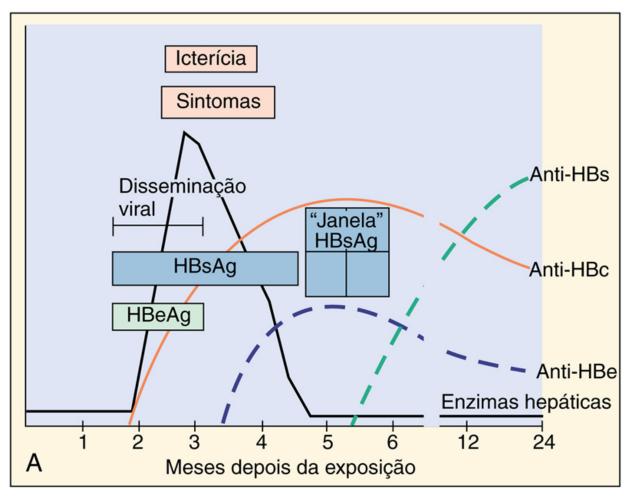


FIGURA 55-11 Consequências clínicas da infecção de hepatite B aguda. *HBsAg*, Antígeno de superfície da hepatite B. (Modificado de White DO, Fenner F: *Medical virology*, ed 3, New York, 1986, Academic.)



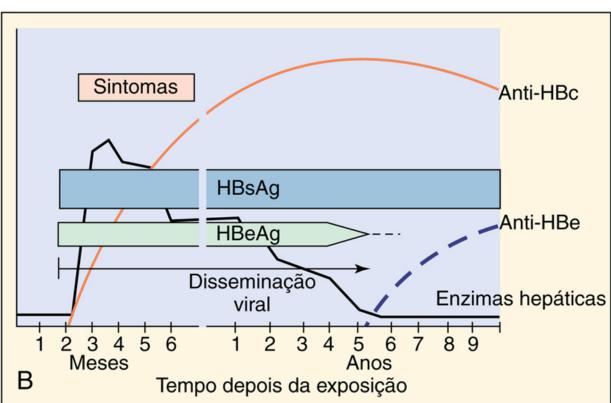


FIGURA 55-12 A, Episódios sorológicos associados com curso típico da hepatite B aguda. B, Desenvolvimento do estado de portador crônico do vírus da hepatite B. O diagnóstico sorológico de rotina depende da detecção de imunoglobulina M anti-HBc durante "a janela do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg)", quando HBs e anti-HBs são indetectáveis. Anti-HBc, Anticorpo contra antígeno do núcleo da hepatite B [HBcAg]; Anti-HBe, anticorpo contra antígeno Be da hepatite B [HBeAg]; Anti-HBs, anticorpo contra HBsAg. (Modificada de Hoofnagle JH: Serologic markers of hepatitis B virus infection, Annu Rev Med 32:1-11, 1981.)

A infecção por HBV é caracterizada por **período longo de incubação e início insidioso**. Os sintomas durante o período prodrômico podem incluir febre, mal-estar e anorexia, seguidos de náuseas, vômitos, desconforto abdominal e calafrios. Os

sintomas ictéricos clássicos de dano hepático (p. ex., icterícia, urina escura, fezes pálidas) aparecem logo depois. A recuperação é indicada por declínio da febre e apetite renovado.

A hepatite fulminante ocorre em cerca de 1% dos pacientes ictéricos e pode ser fatal. A doença é marcada por sintomas mais intensos e indicação de dano hepático grave, como ascite e sangramento.

A infecção por HBV pode promover reações de hipersensibilidade causadas por complexos imunes de HBsAg e anticorpo. Esses complexos podem produzir erupção cutânea, poliartrite, febre, vasculite necrosante aguda e glomerulonefrite.

Infecção Crônica

A hepatite crônica sucede em 5% a 10% das pessoas portadoras de infecções por HBV, geralmente após quadro inicial de doença leve ou não percebido. Cerca de um terço dessas pessoas apresenta hepatite crônica ativa com destruição continuada do fígado, acarretando escarificação do fígado, cirrose, insuficiência hepática ou CHP. Os outros dois terços apresentam hepatite passiva crônica e são menos propensos a problemas. A hepatite crônica pode ser detectada acidentalmente pela descoberta de níveis elevados de enzimas hepáticas em perfil bioquímico de rotina. As pessoas com infecção crônica são as principais fontes de disseminação do vírus e estão em risco de doença fulminante se forem coinfectadas com o HDV.

Carcinoma Hepatocelular Primário

A Organização Mundial da Saúde estima que 80% de todos os casos de CHP podem ser atribuídos às infecções crônicas por HBV. O genoma do HBV está integrado às células do CHP, e essas células expressam os antígenos do HBV. O CHP é normalmente fatal e uma das três principais causas mais comuns de mortalidade por câncer no mundo. Em Taiwan, pelo menos 15% da população é portadora do HBV e quase a metade vai a óbito por CHP ou cirrose. O CHP, assim como o câncer cervical, é um câncer humano passível de prevenção por vacinação.

O HBV pode induzir o CHP ao promover reparo hepático e crescimento celular continuados em resposta à inflamação e ao dano aos tecidos ou por se integrar no cromossomo do hospedeiro e estimular diretamente o crescimento das células. Essa integração poderá incentivar rearranjos genéticos ou justapor promotores virais próximos aos genes de controle da multiplicação celular. De modo alternativo, uma proteína codificada por um gene X do HBV pode transativar (ligar) a transcrição de proteínas celulares e estimular a multiplicação das células. A presença do genoma do HBV pode permitir que uma mutação subsequente promova a carcinogênese. O período de latência entre a infecção por HBV e o CHP pode variar de 9 a 35 anos.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico inicial de hepatite pode ser realizado com base nos sintomas clínicos e na presença de enzimas hepáticas no sangue (Fig. 55-12). Entretanto, a sorologia da infecção por HBV descreve o curso e a natureza da doença (Tabela 55-2). As infecções agudas e crônicas por HBV podem ser diferenciadas pela presença de HBsAg e de HBeAg no soro e pelo padrão de anticorpos aos antígenos individuais do HBV.



Tabela 55-2

Interpretação dos Marcadores Sorológicos de Infecção pelo Vírus da Hepatite B

	Estado Doentio					Estado Sadio	
Reatividade Sorológica	Precoce (Pré-sintomático)	Agudo Precoce	Agudo	Crônico	Agudo Tardio	Resolvido	Vacinado
Anti-HBC	_	_	+*	+	+/-	+	_
Anti-HBe	-	_	_	_	+/-	+/_+	_
Anti-HBs	_	_	-	_	_	+	+
HBeAg	_	+	+	+	_	_	_
HBsAg	+	+	+	+	+	_	_
Vírus infeccioso	+	+	+	+	+	_	-

HBc, core do vírus da hepatite B; HBeAg, antígeno Be da hepatite B; HBsAg, antígeno de superfície da hepatite B.

Os antígenos HBsAg e HBeAg são secretados no sangue durante a replicação viral. A detecção do HBeAg é o melhor correlato da presença do vírus infeccioso. Uma infecção crônica ou não resolvida pode ser diferenciada pela descoberta continuada de HBeAg, HBsAg ou de ambos e pela falta de anticorpo detectável contra esses antígenos. Anticorpos anti-HBsAg indicam a resolução da infecção ou a vacinação. Os imunocomplexos de HBeAg e HBsAg e o anticorpo inibem a

^{*} IgM anti-HBc deverá estar presente.

[†] Anti-HBe pode ser negativo após doença crônica.

produção de anticorpos e obscurecem a detecção do antígeno complexado. Embora por razões diferentes, o par HBsAg/anti-HBs (à semelhança do par Clark Kent/Super-Homem) nunca podem ser detectados juntos ao mesmo tempo.

A presença de anticorpos anti-HBcAg é indicativa de infecção prévia ou em andamento por HBV, e IgM anti-HBc é a melhor maneira de diagnosticar infecção aguda recente, especialmente quando a infecção está sendo resolvida e quando nem o HBsAg nem o anti-HBs podem ser detectados (janela).

A quantidade de vírus no sangue pode ser determinada pela quantificação do genoma por meio do ensaio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e técnicas relacionadas. O conhecimento da carga viral pode auxiliar na determinação do estágio de infecção crônica por HBV e na eficácia de tratamento antiviral.

Tratamento, Prevenção e Controle

A imunoglobulina da hepatite B pode ser administrada dentro de uma semana da exposição e a bebês recém-nascidos de mães portadoras de HBsAg, para prevenir ou atenuar a doença. A infecção crônica por HBV pode ser tratada com fármacos direcionados para a polimerase (p. ex., lamivudina, entecavir, telbivudina ou tenofovir, que são inibidores da transcriptase reversa do HIV) ou os análogos de nucleosídeos adefovir dipivoxil e famciclovir. Esses tratamentos aprovados pela U.S. Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos são aplicados durante um ano. Infelizmente, a resistência às drogas antivirais tem sido desenvolvida. O interferon-α peguilado também pode ser efetivo e deve ser administrado durante pelo menos 4 meses.

A transmissão do HBV no sangue ou nos derivados do sangue tem sido significativamente reduzida pela triagem do sangue de doadores quanto à presença de HBsAg e anti-HBc. Esforços complementares para prevenir a transmissão do HBV incluem o sexo seguro e evitar estilos de vida que facilitem a disseminação do vírus. Os contatos domésticos e os parceiros sexuais de portadores de HBV estão em maior risco, como aqueles pacientes em hemodiálise, receptores de produtos à base de *pool* de plasma, profissionais da saúde expostos a sangue e bebês nascidos de mães portadoras do HBV.

A vacinação é recomendada para lactentes, crianças e especialmente pessoas em grupos de alto risco (Quadro 55-5). Para recém-nascidos de mães portadoras de HBsAg e pessoas acidentalmente expostas, via pele ou mucosas, a sangue ou secreções de uma pessoa positiva para HBsAg, a vacinação é útil mesmo após a exposição. A imunização das mães deverá reduzir a incidência de transmissão a bebês e crianças mais velhas, reduzindo também o número de portadores crônicos ao HBV. A prevenção do HBV crônico pode diminuir a incidência de CHP.

As vacinas de HBV são compostas de partículas em formato de vírus. A vacina inicial contra o HBV derivou-se de partículas de HBsAg de 22 nm em plasma humano obtido de pessoas com infecção crônica. A vacina atual foi geneticamente construída pela inserção de um plasmídeo contendo o gene S para HBsAg em uma levedura, a *Saccharomyces cerevisiae*. Após a expressão, a proteína sofre uma montagem no formato de partículas virais, o que intensifica sua imunogenicidade.

A vacina deve ser aplicada em uma série de três injeções, com a segunda e a terceira doses administradas dentro de 1 e 6 meses após a primeira dose. O sorotipo único e a faixa limitada de hospedeiros (humanos) ajudam a assegurar o sucesso de um programa de imunização.

As precauções universais para manuseio de sangue e fluidos corporais são postas em prática para limitar a exposição ao HBV. Assume-se que todos os pacientes estejam infectados. Luvas são exigidas para manusear o sangue e os fluidos corporais; o uso de vestuário de proteção e do equipamento de proteção ocular também pode ser necessário. Cuidados especiais deverão ser tomados com agulhas e instrumentos afiados. Os materiais contaminados com HBV podem ser desinfetados com soluções de hipoclorito de sódio a 10%, mas diferentemente da maioria dos vírus envelopados, o HBV não é prontamente inativado por detergentes.

Vírus das Hepatites C e G

O HCV foi identificado em 1989 após isolamento de um RNA viral de um chimpanzé infectado com sangue de pessoa portadora de NANBH (hepatite não A, não B). O RNA viral obtido do sangue foi convertido em DNA com transcriptase reversa, suas proteínas foram expressas e os anticorpos de pessoas com NANBH foram usados para detectar as proteínas virais. Esses estudos resultaram no desenvolvimento de um teste de ELISA e de outros testes genômicos para detecção do vírus, que ainda não pode crescer em cultivo celular.

O HCV é a causa predominante da infecção pelo vírus NANBH e foi a principal causa da hepatite pós-transfusão antes da triagem de rotina do suprimento de sangue quanto à presença do HCV. Existem mais de 170 milhões de portadores do HCV no mundo — 3% da população — e mais de 4 milhões nos Estados Unidos. O HCV é transmitido por meios similares aos do HBV, mas tem potencial ainda maior para o estabelecimento de hepatite crônica persistente. Muitos indivíduos infectados com HCV estão também infectados com HBV ou HIV. A hepatite crônica acarreta, com frequência, cirrose e, potencialmente, carcinoma hepatocelular.

Estrutura e Replicação

O HCV é o único membro do gênero *Hepacivirus* da família **Flaviviridae**. Há seis principais genótipos de HCV (*clades* ou subtipos) e, entre e dentro de cada genótipo, existe uma considerável diversidade genética e antigênica. O vírus tem entre 30 e 60 nm de diâmetro, **genoma de RNA de polaridade positiva** e é **envelopado**. O genoma do HCV (9.100 nucleotídeos)

codifica 10 proteínas, incluindo duas glicoproteínas (E1, E2). A RNA polimerase dependente de RNA viral é propensa ao erro e gera mutações nos genes das glicoproteínas e em outros genes, o que acaba gerando uma variabilidade antigênica. Essa variabilidade torna muito difícil o desenvolvimento de uma vacina.

O HCV infecta somente humanos e chimpanzés. O HCV liga-se a múltiplos receptores da superfície celular expressos em hepatócitos e linfócitos B, que também facilitam a sua entrada na célula. Os receptores incluem receptores de superfície CD81 (tetraspanina), receptores "cata-lixo" (em inglês, *scavenger*) de classe B tipo I (SRB1) e proteínas de junções estreitas (*tight junction*) claudina-1 e ocludina. O HCV também pode se autorrevestir com lipoproteínas de baixa densidade ou lipoproteínas de muito baixa densidade e, em seguida, usar o receptor de lipoproteína para facilitar a sua captação para os hepatócitos. O vírus se replica como outros flavivírus. O vírion é montado e brota no retículo endoplasmático, tornando-se associado com a célula. As proteínas do HCV inibem a apoptose e a ação do interferon-α aderindo ao receptor do fator de necrose tumoral e à proteína quinase R. Essas ações evitam a morte da célula do hospedeiro e promovem o escape às proteções do hospedeiro para promover a infecção persistente.

Patogênese

A habilidade do HCV em permanecer associado com a célula e prevenir a morte da célula hospedeira promove infecção persistente, mas resulta em posterior doença hepática. Podem ser produzidas até 10¹² partículas por dia em indivíduos cronicamente infectados, potencialmente assintomáticos. A capacidade de os vírus evadirem a ação do interferon e mudar sua antigenicidade ajuda o vírus a estabelecer a doença crônica. As respostas imunes mediadas por células são necessárias para resolver a infecção, mas também causam danos nos tecidos. O anticorpo para o HCV não é protetor. Tal como para o HBV, uma vez estabelecida, a infecção crônica pode exaurir as células T citotóxicas CD8, de modo que elas não possam resolver a infecção. A extensão da infiltração linfocítica, inflamação, fibrose portal e periportal e da necrose lobular em biópsias hepáticas pode ser utilizada para classificar a intensidade da doença. Tem-se sugerido que a inflamação por citocinas, o reparo contínuo do fígado e a indução da multiplicação celular que ocorrem durante a infecção crônica por HCV são fatores predisponentes no desenvolvimento de CHP.

Epidemiologia

O HCV é transmitido principalmente por sangue infectado e por via sexual. Os usuários de drogas injetáveis e indivíduos tatuados estão em risco máximo de infecção pelo HCV. Procedimentos de triagem têm acarretado redução nos níveis de transmissão do vírus por transfusão de sangue e doação de órgãos (Quadro 55-6). Quase todas (mais de 90%) as pessoas infectadas com HIV e que são ou eram usuárias de drogas intravenosas estão infectadas com HCV. Esse vírus é especialmente prevalente na região sul da Itália, Espanha, Europa central, Japão e partes do Oriente Médio (p. ex., quase 20% de todos os doadores de sangue no Egito são HCV positivos). A alta incidência de infecções assintomáticas crônicas promove a disseminação do vírus na população.



Quadro 55-6 Epidemiologia dos Vírus das Hepatites B, C e D

Doença/Fatores Virais

O vírus envelopado é lábil à dessecação. O HBV é menos sensível a detergentes que outros vírus envelopados.

O vírus é liberado durante períodos assintomáticos.

O HBV (10%) e o HCV (70%) causam infecção crônica com potencial propagação do vírus.

Transmissão

Presentes em sangue, sêmen e secreções vaginais (HBV: saliva e leite materno).

Via transfusão, lesão por picada de agulha, injetáveis compartilhados por usuários de drogas ilícitas, relações sexuais e amamentação.

Quem Está sob Risco?

Crianças: doença assintomática leve com estabelecimento de infecção crônica

Adultos: início insidioso de hepatite

Pessoas infectadas com HBV e coinfectadas ou superinfectadas com HDV; sintomas abruptos mais intensos com possibilidade de doença fulminante

Adultos com HBV ou HCV crônico: alto risco de cirrose e carcinoma hepatocelular primário

Distribuição Geográfica/Sazonalidade

Os vírus são encontrados no mundo todo.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Evitar o comportamento de alto risco

HBV: vacina contendo partículas semelhantes a vírus (HBsAg)

HBV, vírus da hepatite B; HCV, vírus da hepatite C; HDV, vírus da hepatite D.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 55-1)

O HCV causa três tipos de doença (Fig. 55-13): (1) hepatite aguda com resolução da infecção e recuperação em 15% dos casos; (2) infecção crônica persistente com possível progressão para a doença (em longo prazo durante a vida) para 70% das pessoas infectadas; e (3) progressão rápida e intensa para cirrose em 15% dos pacientes. A viremia pode ser detectada dentro de 1-3 semanas após transfusão de sangue contaminado com HCV e dura entre 4-6 meses em pessoas com infecção aguda, porém mais de 10 anos naquelas com infecção persistente. Em sua forma aguda, a infecção por HCV é semelhante àquela por HAV e HBV, mas a resposta inflamatória é menos intensa e os sintomas são normalmente mais leves. Com mais frequência (acima de 70%), a doença inicial é assintomática, mas estabelece doença crônica persistente. O sintoma predominante é a fadiga crônica. A doença crônica persistente geralmente progride para a hepatite crônica ativa dentro de 10-15 anos, para a cirrose (20% dos casos crônicos) e para a insuficiência hepática (20% dos casos cirróticos) após 20 anos. O dano hepático induzido pelo HCV pode ser exacerbado por álcool, certos medicamentos e outras hepatites virais que provocam a cirrose. O HCV promove o desenvolvimento de carcinoma hepatocelular após 30 anos em até 5% dos pacientes cronicamente infectados.

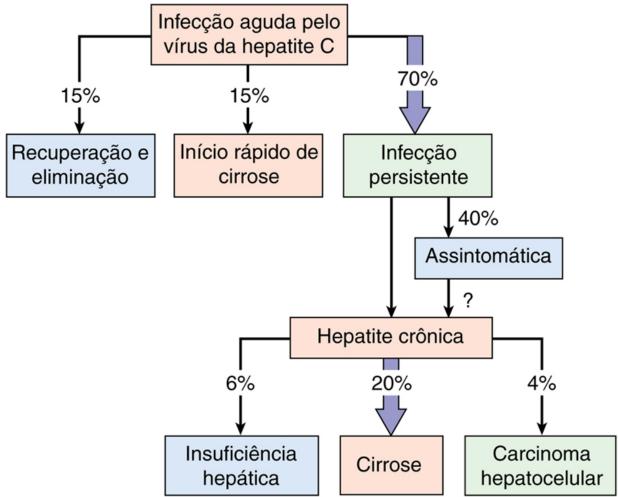


FIGURA 55-13 Consequências da infecção pelo vírus da hepatite C.



Caso Clínico 55-1 Vírus da Hepatite C

Morsica e colaboradores (*Scand J Infect Dis* 33:116-120, 2001) reportaram um caso no qual uma mulher de 35 anos foi internada com mal-estar e icterícia. Os níveis elevados de bilirrubina no sangue (71,8 μmol/L; valor normal <17 μmol/L) e da enzima aspartato aminotransferase (AST) (410 UI/L; valor normal <30 UI/L) indicavam dano hepático. A sorologia foi negativa para anticorpos contra os vírus das hepatites A, B e C, vírus Epstein-Barr, CMV e HIV-1. Entretanto, sequências de RNA genômico do HCV foram detectadas por RT-PCR. Os níveis da AST chegaram ao máximo na 3ª semana após a internação e voltaram ao normal por volta da 8ª semana. Nessa 8ª semana, o genoma do HCV no sangue

tinha níveis indetectáveis e o anticorpo anti-HCV foi detectado. Suspeitou-se de que a paciente tinha sido infectada por seu parceiro sexual, o que foi confirmado pela genotipagem de amostras virais obtidas de ambos. A confirmação foi fornecida por análise de sequência parcial do gene E2 dos dois isolados virais. A divergência genética de 5% detectada entre os isolados, foi inferior à divergência de ≈20% esperada para cepas não relacionadas. Antes da análise, o parceiro sexual da paciente desconhecia ser portador de infecção crônica por HCV. Mais intensamente que o HBV, que também é transmitido por meios sexuais e parenterais, o HCV causa infecções crônicas e que podem ser assintomáticas. A transmissão não percebida do vírus, como neste caso, reforça a disseminação viral. A análise molecular demonstra a instabilidade genética do genoma do HCV, como um possível mecanismo para facilitar sua infecção crônica ao alterar sua aparência antigênica para promover o escape da resposta imune.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico e a detecção da infecção por HCV se baseiam no reconhecimento por ELISA do anticorpo anti-HCV ou detecção do genoma do RNA. A soroconversão ocorre dentro de 7-31 semanas da infecção. O teste de ELISA é usado para triagem do suprimento de sangue de doadores normais. Assim como para o HIV, os resultados podem ser confirmados por procedimentos como *Western immunoblot*. Nem sempre o anticorpo é detectável em pessoas virêmicas, em pacientes imunocomprometidos ou naqueles submetidos a tratamento de hemodiálise. A detecção e a quantificação pela reação da cadeia da polimerase após transcrição reversa (RT-PCR), o teste b-DNA (*branched*-DNA) e outras técnicas moleculares são o "padrão-ouro" para confirmação do diagnóstico de HCV e para garantir o sucesso da terapia com drogas antivirais. Ensaios genéticos são mais específicos, independentemente das variações do vírus, podendo detectar o RNA do HCV em pessoas soronegativas.

Tratamento, Prevenção e Controle

O interferon-α recombinante ou interferon peguilado (tratado com polietilenoglicol para aumentar a sua vida biológica), sozinho ou juntamente com a ribavirina, eram os únicos tratamentos disponíveis para o HCV até 2011, quando dois inibidores da protease específicos para o vírus, boceprevir e telaprevir, e mais recentemente, ledipasvir, foram aprovados para tratamento. O sofosbuvir, um inibidor da polimerase, também está disponível. Outros medicamentos antivirais e coquetéis de fármacos, sem interferon, estão em desenvolvimento. Tal como para o HIV, a adição desses inibidores específicos do HCV ao protocolo antiviral anterior é importante para limitar a evolução da resistência à droga e adicionou uma diferença significativa à eficácia terapêutica, com uma redução nos efeitos colaterais do tratamento.

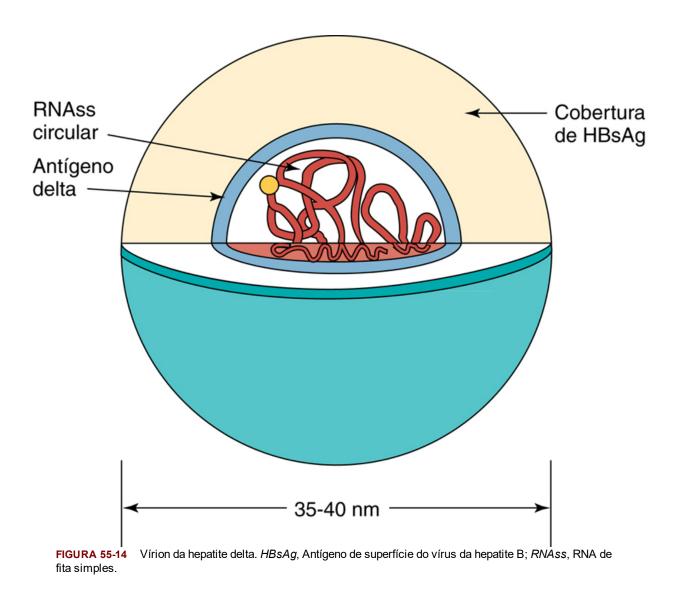
As precauções para prevenir a transmissão do HCV são similares às do HBV e outros patógenos transmitidos pelo sangue. Doadores de sangue e órgãos são diagnosticados quanto à presença de HCV. Indivíduos infectados com HCV não devem dividir itens de higiene pessoal ou agulhas de seringa que possam estar contaminados com sangue e devem praticar sexo seguro. A ingestão de álcool deve ser limitada porque exacerba os danos ao fígado causados pelo HCV.

Vírus da Hepatite G

O HGV (também conhecido como vírus GB tipo C ou GBV-C) lembra o HCV em muitos aspectos. Trata-se de um flavivírus, é transmitido pelo sangue e tem predileção por infecção hepática crônica. Ele é identificado pela detecção do genoma por RT-PCR ou por outros métodos de detecção de RNA.

Vírus da Hepatite D

Cerca de 15 milhões de pessoas no mundo estão infectados com HDV (agente delta), e o vírus é responsável por causar 40% dos casos de infecções de **hepatite fulminante**. O HDV é singular, pois usa o HBV e as proteínas das células-alvo para se replicar e produzir sua única proteína. Ele é um parasita viral, provando que "mesmo pulgas têm pulgas". O **HBsAg é essencial para o empacotamento do vírus**. O agente delta lembra os vírus satélites de plantas e viroides em seu tamanho, estrutura genômica e exigência de vírus auxiliar para replicação (Fig. 55-14).



Estrutura e Replicação

O genoma do RNA do HDV é muito pequeno (≈ 1.700 nucleotídeos) e, diferentemente de outros vírus, o RNA de fita simples é circular e em formato de haste como resultado de seu pareamento extensivo de base. O vírion tem quase o mesmo tamanho do vírion do HBV (35 a 37 nm de diâmetro). O genoma é cercado pelo nucleocapsídeo do antígeno delta, que, por sua vez, é revestido por um envelope contendo HBsAg. O antígeno delta existe com uma forma pequena (24 kDa) ou grande (27 kDa), mas a forma pequena é predominante.

O agente delta adere e é internalizado pelos hepatócitos da mesma maneira que o HBV, pois tem HBsAg em seu envelope. Os processos de transcrição e de replicação do genoma do HDV são incomuns. A RNA polimerase II da célula hospedeira faz uma cópia do RNA para replicar o seu genoma. Esse genoma então forma uma estrutura de RNA chamada de **ribozima**, que cliva o RNA circular para produzir um RNAm para o antígeno delta pequeno. O gene para o antígeno delta é mutado por uma enzima celular (adenosina desaminase ativada por RNA de dupla fita) durante a infecção, permitindo a produção de um antígeno delta grande. A produção desse antígeno limita a replicação do vírus, mas também promove a associação do genoma com o HBsAg para formar um vírion, e o vírus é então liberado da célula.

Patogênese

O agente delta pode replicar-se e causar doença somente em pessoas com infecções ativas por HBV. Uma vez que dois agentes sejam transmitidos pelas mesmas vias, uma pessoa pode ser **coinfectada** com HBV e com o agente delta. Uma pessoa com HBV crônica também pode ser **superinfectada** com o agente delta. A progressão mais rápida e intensa ocorre em portadores de HBV superinfectados com HDV do que em pessoas coinfectadas com HBV e o agente delta, porque durante a coinfecção o HBV precisa primeiro estabelecer sua infecção antes que o HDV possa se replicar (Fig. 55-15), enquanto na superinfecção por HBV, o vírus permite que o agente delta se replique imediatamente.

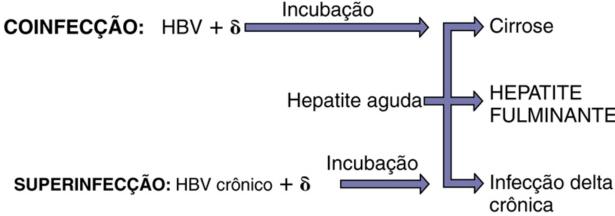


FIGURA 55-15 Consequências da infecção pelo vírus delta. O vírus delta (δ) exige a presença da infecção pelo vírus da hepatite B (HBV). A superinfecção de uma pessoa já infectada com HBV (portadora) causa progressão mais rápida e intensa que a coinfecção (seta mais curta).

A replicação do agente delta resulta em citotoxicidade e dano hepático. A infecção persistente por agente delta é estabelecida, com frequência, em portadores de HBV. Os anticorpos são elicitados contra o agente delta, mas a proteção é proporcionada pelos anticorpos para o HBsAg, gerados pela vacinação ou pela infecção, porque este é o antígeno externo e a proteína de adesão viral para o HDV. Ao contrário da doença por HBV, o dano ao fígado acontece como resultado do efeito citopático direto do agente delta combinado com a imunopatologia subjacente da doença por HBV.

Epidemiologia

O agente delta infecta crianças e adultos com infecção subjacente por HBV (Quadro 55-6), e as pessoas persistentemente infectadas com HBV e HDV representam uma fonte para o vírus. O agente tem distribuição mundial infectando cerca de 5% dos 3 × 10⁸ portadores de HBV, sendo endêmico no sul da Itália, bacia amazônica, partes da África e Oriente Médio. As epidemias de infecção por HDV ocorrem na América do Norte e na Europa ocidental, geralmente em usuários de drogas ilícitas. O HDV se dissemina pelas mesmas vias que o HBV e os mesmos grupos estão em risco de infecção, estando em risco máximo usuários de drogas parenterais, hemofílicos e outros receptores de produtos de sangue. A triagem em bancos de sangue reduziu o risco para os receptores de transfusões de derivados de sangue.

Síndromes Clínicas (Quadro 55-7)

O agente delta aumenta a intensidade das infecções por HBV. A hepatite fulminante tem mais probabilidade de se desenvolver em pessoas infectadas com o agente delta do que naquelas infectadas com outros vírus de hepatite. Essa forma muito séria de hepatite causa alteração na função cerebral (encefalopatia hepática), icterícia extensa e necrose hepática significativa, que é fatal em 80% dos casos. A infecção crônica com o agente delta pode ocorrer em pessoas com HBV crônico.



Quadro 55-7 Resumos Clínicos

Hepatite A: Um homem de 37 anos apresenta febre, calafrios, cefaleia e fadiga 4 semanas após se alimentar em um restaurante sem muita higiene. Dentro de 2 dias ele desenvolveu anorexia, vômito e dor no quadrante superior direito do abdome, seguidos de icterícia, urina escura e fezes pálidas, que persistiram durante 12 dias. Em seguida, os sintomas diminuíram.

Hepatite B: Um usuário de drogas intravenosas (IV) de 27 anos desenvolve sintomas de hepatite 2 meses após ter compartilhado uma agulha já usada.

Hepatites B e D: Outro usuário de drogas IV desenvolve sintomas de hepatite, capacidade mental alterada e necrose hepática significativa, indo a óbito em seguida.

Hepatite C: Enzimas hepáticas elevadas foram detectadas em um indivíduo durante um exame detalhado. O HCV no sangue foi detectado por ELISA. Dez anos depois, ele sofreu cirrose e insuficiência hepática que exigiu transplante do fígado.

Diagnóstico Laboratorial

A presença do agente pode ser notada pela detecção do genoma de RNA, do antígeno delta ou de anticorpos anti-HDV. Os procedimentos por ELISA e radioimunoensaio estão disponíveis para essa detecção. O antígeno delta pode ser detectado no sangue durante a fase aguda da doença em amostra de soro tratada com detergente. Técnicas de RT-PCR podem ser utilizadas para detectar o genoma do vírion no sangue.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não existe tratamento específico conhecido para a hepatite por HDV. Como o agente delta depende do HBV para replicação e se dissemina pelas mesmas vias, a prevenção da infecção com HBV evita a infecção por HDV. A imunização com a vacina de HBV protege contra a infecção com o vírus delta. Se uma pessoa já adquiriu o HBV, a infecção com o agente delta pode ser prevenida suspendendo-se o uso intravenoso de drogas ilícitas e evitando-se produtos de sangue contaminado com HDV.

Vírus da Hepatite E

O HEV (E-NANBH) (*E* de *entérico* ou *epidêmico*) é disseminado predominantemente pela via fecal-oral, em especial pela água contaminada (Quadro 55-3). O HEV é único, mas assemelha-se aos calicivírus, com base no seu tamanho (27 a 34 nm), genoma de RNA e na estrutura do capsídeo nu. Embora o HEV seja encontrado em todo o mundo, é mais problemático nos países emergentes. Epidemias foram informadas na Índia, no Paquistão, no Nepal, na Birmânia, no norte da África e no México.

Os sintomas e o curso da doença por HEV são semelhantes aos da doença por HAV; o vírus causa apenas uma doença aguda. Entretanto, os sintomas para HEV podem ocorrer mais tarde que aqueles da doença por HAV. A taxa de mortalidade associada à doença por HEV é de 1% a 2%, aproximadamente 10 vezes maior do que aquela associada com doença por HAV. A infecção por HEV é especialmente grave em gestantes (taxa de mortalidade de ≈ 20%).

Referências Bibliográficas

Blum HE, Gerok W, Vyas GN. The molecular biology of hepatitis B virus. Trends Genet. 1989;5:154-158.

Cann AJ. Principles of molecular virology. San Diego: Academic; 2005.

Carter J, Saunders V. Virology: principles and applications. Chichester, England: Wiley; 2007.

Casey JL. Hepatitis delta virus, Curr Top Microbiol Immunol. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2006.

Catalina G, Navarro V. Hepatitis C: a challenge for the generalist. Hosp Pract. 2000;35:97–108.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Collier L, Oxford J. Human virology. ed 4 Oxford, England: Oxford University Press; 2011.

Fallows DA, Goff AP. Hepadnaviruses: current models of RNA encapsidation and reverse transcription. Adv Virus Res. 1996;46:167–196.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection—natural history and clinical consequences. N Engl J Med. 2004;350:1118–1119.

Grimm D, Thimme R, Blum HE. HBV life cycle and novel drug targets. Hepatol Int. 2011;5:644-653.

Hagedorn CH, Rice CM. The hepatitis C viruses, Curr Top Microbiol Immunol. Berlin: Springer-Verlag; 2000.

Hoofnagle JH. Type A and type B hepatitis. Lab Med. 1983;14:705–716.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Lauer GM, Walker BD. Medical progress: hepatitis C virus infection. N Engl J Med. 2001;345:41-52.

Lok ASF. Chronic hepatitis B. N Engl J Med. 2002;346:1682–1683.

Mason WS, Seeger C. Hepadnaviruses: molecular biology and pathogenesis, Curr Top Microbiol Immunol. Berlin: Springer-Verlag; 1991.

Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, et al. *Manual of clinical microbiology*. ed 9 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2007.

Plageman PGW. Hepatitis C virus. Arch Virol. 1991;120:165-180.

Robinson W, Koike K, Will H. Hepadnavirus. New York: Liss; 1987.

Strauss JM, Strauss EG. Viruses and human disease. ed 2 San Diego: Academic; 2007.

Tam AW, Smith MM, Guerra ME, et al. Hepatitis E virus: molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. *Virology*. 1991;185:120–131.

Taylor JM. Hepatitis delta virus. Virology. 2006;344:71–76.

Voyles BA. The biology of viruses. ed 2 Boston: McGraw-Hill; 2002.

Websites

Centers for Disease Control and Prevention: Viral hepatitis. www.cdc.gov/hepatitis/. Acessado em 29 de abril de 2015.

Cernescu C, Ruta S, Gheorghe L, et al: #4: Hepatitis C treatment, 2011 edition. www.flyingpublisher.com/0004.php. Acessado em 29 de abril de 2015.

Gilroy RK: Hepatitis A. http://emedicine.medscape.com/article/177484-overview. Acessado em 29 de abril de 2015.

Hepatitis B Foundation: Statistics. www.hepb.org/hepb/statistics.htm. Acessado em 29 de abril de 2015.

Mauss S, Berg T, Rockstroh J, et al: #11: The 2012 short guide to hepatitis C. www.flyingpublisher.com/0011.php. Acessado em 29 de abril de 2015.

Mukhrjee S, Dhawan VK: Hepatitis C. http://emedicine.medscape.com/article/177792-overview. Acessado em 29 de abril de 2015.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases: Viral hepatitis. www.niaid.nih.gov/topics/hepatitis/Pages/default.aspx. Acessado em 29 de abril de 2015.

Nature: Hepatitis C. www.nature.com/nature/outlook/hepatitis-c/index.html. Acessado em 29 de abril de 2015.

Pascarella S, Negroa F: Hepatitis D virus: an update. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1478-3231.2010.02320.x/pdf. Acessado em 20 de maio de 2015.

Sutphen SK: Hepatitis A and B vaccines. www.medscape.org/viewarticle/564225. Acessado em 20 de maio de 2015.

WHO Alert: Hepatitis A factsheet. www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsredc2007/en/index4.html. Accessed Acessado em 29 de abril de 2015

WHO Alert: Hepatitis B factsheet. www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo20022/en/index4.html. Acessado em 29 de abril de 2015.

WHO Alert: Hepatitis C factsheet. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/. Acessado em 29 de abril de 2015.

CAPÍTULO 56

Doenças Causadas por Príons

Um homem de 73 anos queixou-se de fraqueza, esquecimento, dificuldade para falar e movimentos involuntários de seu braço direito. Após 3 meses, mioclonia (espasmos musculares) e outros sinais neurológicos foram observados e o homem foi hospitalizado. A proteína 14-3-3 foi detectada no líquido cefalorraquidiano, mas não houve evidência de infecção. A condição clínica do paciente continuou a piorar, e ele entrou em coma e morreu 4 meses após o início dos sintomas. Na autópsia, cortes do cérebro mostraram vacuolização, placas amiloides e fibrilas, mas não havia nenhuma evidência de células inflamatórias.

- 1. Quais sinais clínicos indicam doença por príon?
- 2. Por que os príons são tão resistentes à desinfecção?
- 3. Por que n\u00e3o houve evid\u00e0ncia de resposta imune?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Príons

Palavras-gatilho

Doença de Creutzfeldt-Jakob, encefalopatia espongiforme, Kuru, demência pré-senil

Biologia, Virulência e Doença

- Os príons são agregados de proteínas infecciosas resistentes à inativação
- Os príons consistem em subunidades com uma conformação alternativa de proteínas normais do hospedeiro (PrP)
- Os príons ligam-se às PrP normais, alteram a sua conformação e constroem fibrilhas
- Acumulam-se no cérebro, onde causam vacúolos espongiformes
- Ausência de resposta imune, ausência de inflamação
- Formas adquiridas, genéticas e esporádicas da doença de príons
- Doença de Creutzfeldt-Jakob (demência pré-senil), Kuru, doença de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insônia familiar fatal

Epidemiologia

• Transmitidos através de dispositivos cirúrgicos contaminados, por injeção, nos alimentos ou de forma genética

Diagnóstico

• Sintomatologia, RM, testes indiretos

Tratamento, Prevenção e Controle

- Procedimentos de desinfecção rigorosos
- Não há medidas de prevenção ou controle

As encefalopatias espongiformes, que são doenças neurodegenerativas lentas, são causadas por partículas proteináceas infecciosas denominadas *príons*. Ao contrário dos vírus convencionais, os príons não têm estrutura de vírion ou genoma, não desencadeiam resposta imune e são extremamente resistentes à inativação pelo calor, desinfetantes e radiação (Tabela 56-1). **As doenças provocadas por príons podem ser esporádicas, genéticas ou adquiridas.** Após longos períodos de incubação, esses agentes causam danos no sistema nervoso central, o que conduz à encefalopatia espongiforme subaguda. O longo período de incubação, que pode durar 30 anos nos seres humanos, tornou difícil o estudo desses agentes.



Comparação entre Vírus Clássicos e Príons

Característica	Vírus	Príons
Agentes infecciosos filtráveis	Sim	Sim
Presença de ácido nucleico	Sim	Não
Morfologia definida (microscopia eletrônica)	Sim	Não
Presença de proteína	Sim	Sim
Desinfecção por:		
Formaldeído	Sim	Não
Proteases	Alguns	Não
Calor (80°C)	A maioria	Não
Radiação ionizante e ultravioleta	Sim	Não
Doença	•	•
Efeito citopatológico	Sim	Não
Período de incubação	Depende do vírus	Longo
Resposta imune	Sim	Não
Produção de interferon	Sim	Não
Resposta inflamatória	Sim	Não

As doenças de príons humanos adquiridas (por infecção) incluem o Kuru, a doença de Creutzfeldt-Jakob (DCJ) e a variante da DCJ (vDCJ). As doenças genéticas provocadas por príons incluem a DCJ, a síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) e a insônia familiar fatal (FFI). As ocorrências esporádicas de DJC e FFI ocorrem mais frequentemente (85% a 90% dos casos) que as genéticas (10% a 15%) ou adquiridas (1% a 3%). As doenças animais incluem o tremor epizoótico (em inglês, *scrapie*), a encefalopatia espongiforme bovina (BSE ["doença da vaca louca"]), doença emaciante crônica (em mulas, cervos e alces) e encefalopatia transmissível da marta (em inglês, *transmissible mink encephalopathy*) (Quadro 56-1).



Quadro 56-1 Doenças Causadas por Príons

Humanas

Kuru

Doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD)

Variante de CJD (vCJD)

Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (síndrome GSS)

Insônia familiar fatal (FFI)

Insônia esporádica fatal

Animais

Scrapie (ovelhas e cabras)

Encefalopatia transmissível de martas

Encefalopatia espongiforme bovina (BSE [doença da vaca louca])

Doença debilitante crônica (mulas, cervos e alces)

Carlton Gajdusek ganhou o Prêmio Nobel por mostrar que a doença *kuru* tem etiologia infecciosa, bem como pelo desenvolvimento de um método de análise do agente. Stanley Prusiner ganhou o Prêmio Nobel em 1997 pelo desenvolvimento de um modelo de infecção em *hamster* para o agente de *scrapie*. Ele e os seus colegas de trabalho foram capazes de purificar, caracterizar e, então, clonar os genes para o *scrapie* e outros agentes de príon, mostrando que a proteína de príon relacionada com a doença é suficiente para provocar a doença.

Estrutura e Fisiologia

Ao contrário dos vírus, esses agentes são resistentes a uma vasta gama de tratamentos químicos e físicos, tais como formaldeído, radiação ultravioleta e calor de até 80°C. O príon, que carece de ácidos nucleicos detectáveis, consiste em

agregados fibrilares de uma glicoproteína de superfície celular normal, resistentes à protease, hidrofóbica. A proteína normal é denominada PrP^C (proteína príon celular) (27.000 a 30.000 Da), é sensível à protease e é ancorada na membrana celular por uma ligação entre o seu terminal serina e um lipídio especial, glicofosfatidilinositol (proteína ligada ao GPI). A PrP^C interage e modula a função de numerosas proteínas de membrana do cérebro, incluindo canais de potássio, receptores de NMDA e a molécula de adesão de células neurais. A agregação do PrP^C altera a conformação da proteína a partir de uma forma α -helicoidal para uma forma enriquecida em folha- β , para produzir uma proteína aberrante denominada PrP^{Sc} (forma scrapie da proteína príon) (Tabela 56-2). A PrP^{Sc} é resistente à protease, formando agregados em bastões amiloides (fibrilas) e não possui ligação com as células.



Tabela 56-2

Comparação entre Proteína de Príon do Scrapie (PrPSc) e Proteína de Príon Celular (Normal) (PrPC)

Característica	P_TP^{Sc}	PrP ^C
Estrutura	Multimérica	Monomérica
Resistência à protease	Sim	Não
Presença de fibrilas de scrapie	Sim	Não
Localização dentro ou na superfície da célula	Vesículas citoplásmicas e ambiente extracelular	Membrana plasmática
Meia-vida	Dias	Horas

A teoria atual para explicar como uma proteína anormal poderia causar doença é chamada "modelo de proteína mediando dobramentos". Um agregado linear da PrP^{Sc} se liga a uma estrutura aniônica sobre a superfície da célula, tal como um glicosaminoglicano e a PrP^{C} normal na superfície celular. Isso causaria o dobramento da PrP^{C} , adquirindo a estrutura da PrP^{Sc} e juntando-se ao agregado. A estrutura α -helicoidal da PrP^{C} é alterada para uma estrutura mais β -pregueada da PrP^{Sc} . Quando a sequência de PrP^{Sc} se rompe, criam-se novos iniciadores sobre os quais mais príons podem ser construídos. A PrP^{C} continua a ser produzida pela célula, e como ela se liga aos iniciadores de PrP^{Sc} , o ciclo continua. A versão humana da PrP^{C} é codificada no cromossomo 20. O fato de essas placas consistirem em proteína do hospedeiro pode explicar a falta de resposta imune a esses agentes em pacientes com encefalopatias espongiformes.

Diferentes cepas de PrP^{Sc} ocorrem em consequência de mutações na PrP^C (genética) ou por autoperpetuação de padrões alternativos de enovelamento da proteína (esporádica ou adquirida). Mutações específicas no códon 129 determinam a gravidade da CJD. A mutação é conformacional em vez de genética, e essa é outra propriedade que distingue os príons dos vírus. Nos agregados PrP^{Sc}, a PrP^{Sc} atua como um molde para transmitir a sua conformação a cada nova PrP^{Sc}, o qual pode, então, perpetuar a mudança, de maneira análoga a uma mutação no molde genético (ácido desoxirribonucleico [DNA] ou ácido ribonucleico [RNA]) de um vírus. As diferentes cepas conformacionais podem ter diversas propriedades e aspectos variáveis das doenças (p.ex., período de incubação).

A agregação de outras proteínas aos príons, ou a estruturas semelhantes a príons, pode causar ou contribuir para doenças humanas tais como Alzheimer, Huntington e Parkinson.

Patogênese

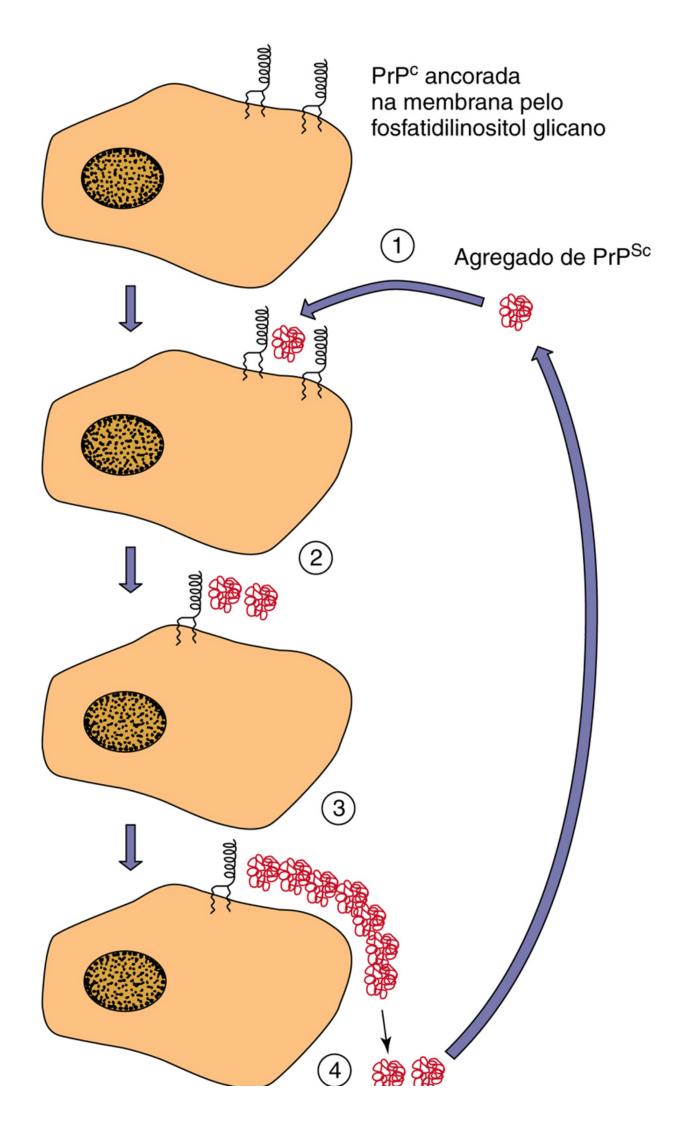
A infecção por príons pode ocorrer por ingestão, penetração através de cortes na pele ou por infecção direta do cérebro ou tecido neuronal com tecido contendo o príon. Após a ingestão, os príons acumulam-se no tecido linfoide secundário altamente inervado, em células dendríticas foliculares e células B e, em seguida, viajam para cima, pelos neurônios, para o sistema nervoso central e cérebro.

A encefalopatia espongiforme descreve o surgimento dos neurônios vacuolizados, bem como a sua perda de função e ausência de resposta imune ou inflamação (Quadro 56-2). A formação de placas que contêm amiloides e fibrilas, a hipertrofia e proliferação de astrócitos e a vacuolização de neurônios e células gliais adjacentes são observadas (Fig. 56-1). A PrPSc atinge elevadas concentrações no cérebro e é captada por neurônios e células fagocíticas, mas é de difícil degradação, uma característica que pode contribuir para a vacuolização do tecido cerebral. Os príons também podem ser isolados a partir de outros tecidos além do cérebro, mas apenas o tecido cerebral mostra as alterações patológicas. Não é gerada inflamação ou resposta imune ao agente, diferentemente do que acontece na encefalite viral clássica. Marcadores proteicos (proteína tau ou proteína cerebral 14-3-3) podem ser detectados no líquido cefalorraquidiano de indivíduos sintomáticos, mas isso não é específico para a doença do príon.



Quadro 56-2 Características Patogênicas dos Príons

Ausência de efeito citopatológico *in vitro* Tempo longo de duplicação de pelo menos 5,2 dias Longo período de incubação
Causam vacuolização de neurônios (espongiformes), placas semelhantes a amiloides, gliose
Causam perda do controle muscular, calafrios, tremores, demência
Ausência de antigenicidade
Ausência de inflamação
Ausência de resposta imune
Ausência de produção de interferon



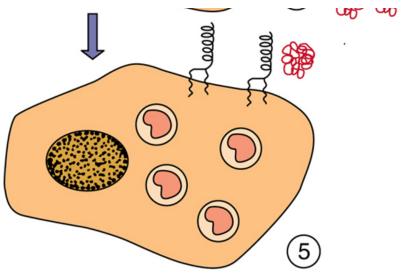


FIGURA 56-1 Modelo de proteína mediando dobramentos para explicar a proliferação de príons. Pr^{C} é uma proteína celular normal que fica ancorada na membrana da célula pelo fosfatidilinositol glicano. A PrP^{Sc} é uma proteína globular hidrofóbica que se agrega com ela mesma e com a PrP^{C} na superfície da célula (1). A PrP^{C} adquire a conformação da PrP^{Sc} (2). A célula sintetiza a nova proteína PrP^{C} (3) e uma cadeia de glicosaminoglicanos aniônicos é construída ao longo da superfície celular (4). Fagocitose ou forças de cisalhamento quebram as cadeias e liberam agregados de PrP^{Sc} que agem como pequenos cristais para iniciar o ciclo final. A PrP^{Sc} é internalizada pelas células neuronais, acumulando-se nessas células (5). Outros modelos já foram propostos.

O período de incubação para CJD e *kuru* pode ser de até 30 anos, mas, uma vez que os sintomas se tornem evidentes, a doença progride rapidamente e a morte se dá quase sempre dentro de 1 ano.

Epidemiologia

A CJD é transmitida sobretudo por (1) injeção; (2) transplante de tecidos contaminados (p.ex., transplante de córneas); (3) contato com dispositivos médicos contaminados (p.ex., eletrodos cerebrais); e (4) via alimentar (Quadro 56-3). A CJD geralmente afeta pessoas com mais de 50 anos. CJD, FFI e síndrome de GSS também são hereditárias, e as famílias com histórias genéticas dessas doenças foram identificadas. Essas doenças são raras, mas ocorrem em todo o mundo.



Quadro 56-3 Epidemiologia da Doença Causada por Príons

Doença/Fatores Virais

Os agentes são resistentes aos procedimentos padronizados de desinfecção microbiana.

As doenças têm períodos de incubação muito longos, de até 30 anos.

Aquisição da doença pode ser via infecciosa, genética ou desconhecida (ocorrência aleatória).

Transmissão

A transmissão é feita via tecido infectado ou a síndrome pode ser herdada

A infecção ocorre por meio de cortes na pele, transplantes de tecidos contaminados (p.ex., córnea) e uso de dispositivos médicos contaminados (p.ex., eletrodos cerebrais).

Infecção por ingestão de tecido infectado.

Quem Está sob Risco?

Membros da tribo Fore na Nova Guiné (especialmente mulheres e crianças) estavam em risco de contrair *kuru* em razão do ritual de canibalismo.

Cirurgiões, pacientes de transplante e submetidos às neurocirurgias e outros estão em risco de contrair CJD e a síndrome GSS.

Geografia/Sazonalidade

A síndrome de GSS e a CJD apresentam ocorrência esporádica no mundo todo.

Não há incidência sazonal.

Meios de Controle

Não há tratamentos disponíveis.

A interrupção do ritual de canibalismo resultou no desaparecimento do *kuru*.

A eliminação do uso de produtos animais na alimentação do gado previne a transmissão da vCJD.

Para a síndrome de GSS e CJD, instrumentos neurocirúrgicos e eletrodos deverão ser desinfetados em solução de hipoclorito a 5% ou hidróxido de sódio a 1 M ou em autoclave a 103,42 kPa durante 1 hora.

CJD, doença de Creutzfeldt-Jakob; GSS, Gertmann-Sträussler-Scheinker; vCJD, variante da doença de Creutzfeldt-Jakob.

Kuru estava limitado a uma pequena área do planalto da Nova Guiné. O nome da doença significa "tremor" ou "estremecer" e a doença estava relacionada com as práticas canibais da tribo Fore na Nova Guiné. Antes do pesquisador Gajdusek intervir, era costume das pessoas dessa tribo comer os corpos de seus parentes falecidos. Quando Gajdusek começou o seu estudo, ele observou que as mulheres e as crianças, em particular, eram as mais suscetíveis à doença. Ele deduziu que as razões seriam pelo fato de que as mulheres e as crianças preparavam a comida, e para elas eram dadas as vísceras menos desejáveis e os cérebros para comer. O seu risco para infecção era maior, porque elas manuseavam o tecido contaminado, tornando possível que o agente penetrasse através de cortes na pele ou via conjuntiva. Além disso, elas ingeriam o tecido neural, que contém as maiores concentrações do agente do *kuru*. O abandono da prática do canibalismo interrompeu a disseminação do *kuru*.

Uma epidemia de BSE (encefalopatia espongiforme bovina ou doença da vaca louca) em 1980, no Reino Unido, e a incidência incomum de quadros de CJD de progressão cada vez mais rápida entre adultos jovens (< 45 anos) em 1996 despertaram a preocupação de que a carne bovina contaminada poderia ser a fonte dessa nova variante de CJD (vCJD). A infecção do gado é ocasionada, mais provavelmente, pelo uso de subprodutos animais contaminados (p.ex., vísceras e cérebro de carneiro) como suplemento proteico na alimentação do gado. A ingestão de carne bovina contaminada é a provável causa dos 153 casos de vCJD; destes, mais de 98% ocorreram no Reino Unido.

Além da infecção, as doenças provocadas por príons também podem ser familiares (genéticas) ou esporádicas, sem história conhecida de exposição. A síndrome de GSS e a FFI são doenças familiares causadas por príons.

Síndromes Clínicas

Como observado, os agentes virais lentos ocasionam doença neurológica degenerativa e progressiva com período longo de incubação, mas com progressão rápida até a morte após o início dos sintomas (Fig. 56-2; Caso Clínico 56-1; Quadro 56-4). As encefalopatias espongiformes são caracterizadas por perda de controle muscular, estremecimentos, contrações mioclônicas e tremores, perda de coordenação, demência de progressão rápida e morte.





Caso Clínico 56-1 Transmissão da Doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD) por

Transfusão

Wroe et al. (*Lancet* 368:2061-2067, 2006) reportaram um caso no qual um homem de 30 anos consultou o seu médico de família por motivo de fadiga e incapacidade de concentração. Os sintomas foram atribuídos à infecção do trato respiratório. Nessa época, os exames neurológicos para o paciente apresentaram resultados normais. A história foi significativa, porque, durante cirurgia realizada 7 anos antes, o paciente recebera transfusão de concentrado de eritrócitos, incluindo sangue de um doador que foi a óbito 1 ano mais tarde com uma variante da doença de Creutzfeldt-Jakob (vCJD). Após 6 meses da consulta inicial, o paciente já apresentava dificuldades para manter o equilíbrio, tendência a cambalear, alguns problemas de memória, tremor nas mãos e "dor em queimação" nas pernas. Nessa ocasião, não havia evidência de alterações na visão ou no estado mental. Após mais 6 semanas, observou-se deterioração do estado mental e da memória do paciente, o equilíbrio e o caminhar se tornaram difíceis e dolorosos, a investigação por ressonância magnética e o eletroencefalograma indicaram alterações, e exame de sangue mostrou a presença da proteína de príon da vCJD (PrPSc). O estado mental do paciente e sua habilidade física continuaram a declinar; ele se tornou mudo, acamado, fracamente responsivo e foi a óbito 8 anos e 8 meses após a transfusão. O teste de *Western immunoblot* de amostras da autópsia do cérebro e das amígdalas acusou a presença da proteína PrPSc. No cérebro, foram observadas placas de PrP e quadro de encefalopatia espongiforme.

Em virtude do longo período de incubação para doenças causadas por príons, é difícil prevenir a transmissão de CJD por transfusão. A variante da CJD tem início mais rápido, e este caso mostra a progressão clássica por 5 estágios: (1) incubação (6 anos); (2) pródromo de fadiga e dificuldade de concentração (18 meses); (3) declínio neurológico

progressivo (9 meses); (4) fase neurológica tardia (4 meses); e (5) fase terminal. A análise por *immunoblot* da proteína príon pode diferenciar a PrP^{Sc} da proteína normal em amostras que podem ser obtidas das amígdalas do paciente (ou do cérebro, na autópsia).



Quadro 56-4 Resumos Clínicos

Doença de Creutzfeldt-Jakob: Um paciente de 63 anos se queixou de memória fraca e dificuldade com a visão e a coordenação muscular. Durante o ano seguinte, ele desenvolveu demência senil e movimentos bruscos irregulares, perda progressiva da função muscular e foi a óbito.

Variante da doença de Creutzfeldt-Jakob: Um paciente de 25 anos é examinado por um psiquiatra por causa de sua ansiedade e depressão. Após 2 meses, ele apresenta problemas de equilíbrio e de controle muscular, além de dificuldades de memória. Ele desenvolve mioclonia e vai a óbito dentro de 12 meses após o início da doença.

Diagnóstico Laboratorial

Não existem métodos para detectar diretamente príons nos tecidos e não há qualquer resposta sorológica. O diagnóstico inicial deve ser feito baseado no quadro clínico. A confirmação do diagnóstico pode ser feita por imagiologia de ressonância magnética, detecção de níveis elevados de proteína 14-3-3 ou proteína tau no LCR, ou de uma forma de PrP resistente à proteinase K em teste Western blot, utilizando anticorpos para PrP em uma biópsia de amígdala. Na autópsia podem ser observados placas amiloides características, vacúolos espongiformes e a PrP detectada por via imuno-histológica. A capacidade da PrP^{Sc} para iniciar a polimerização da PrP normal é utilizada em um ensaio cíclico de enrolamento proteico incorreto (PMCA, protein-misfolding cyclic assay) para amplificar o número de unidades de PrP^{SC}e que pode ser usado para detectar a presença de príons.

Tratamento, Prevenção e Controle

Não existe tratamento para *kuru* ou CJD. Os agentes causadores também são resistentes aos procedimentos de desinfecção usados para outros vírus, incluindo formaldeído, detergentes e radiação ionizante. Para descontaminação, pode-se aplicar autoclave a 103,42 kPa (ou 15 psi) durante 1 hora (em vez de 20 minutos), tratamento com solução de hipoclorito a 5% ou hidróxido de sódio a 1 M. Uma vez que esses agentes podem ser transmitidos em instrumentos e eletrodos cerebrais, esses itens deverão ser cuidadosamente desinfetados antes de serem reutilizados.

O surto de BSE e vCJD no Reino Unido promoveu a criação de legislação para proibir o uso de produtos animais na alimentação animal e estimulou o monitoramento mais cuidadoso do gado. Doenças relacionadas com o príon não têm sido problema na criação de gado nos Estados Unidos. Para minimizar a possibilidade de acúmulo de PrP aberrante, o gado comercializado deve ter menos de 5 anos, de modo que o tecido do músculo tenha menor quantidade de PrP.

Referências Bibliográficas

Aguzzi A, Nuvolone M, Zhu C. The immunobiology of prion diseases. Nat Rev Immunol. 2013;13:888–902.

Aguzzi A, Zhu C. Five questions on prion diseases. PLoS Pathog. 2012;8:e1002651.

Belay ED. Transmissible spongiform encephalopathies in humans. Annu Rev Microbiol. 1999;53:283-314.

Brown P, Coker-Vann M, Pomeroy K, et al. Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease by Western blot identification. *N Engl J Med*. 1986;314:547–551.

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control of animal viruses.* ed 3Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Halfmann R, Alberti S, Lindquist S. Prions, protein homeostasis, and phenotypic diversity. Trends Cell Biol. 2010;20:125–133.

Hsich G, Kenney K, Gibbs CJ, et al. The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med.* 1996;335:924–930.

Knipe DM, Howley PM. Fields virology. ed 6 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

Lee KS, Caughey B. A simplified recipe for prions. Proc Natl Acad Sci US A. 2007;104:9551–9552.

Manson JC. Understanding transmission of the prion diseases. Trends Microbiol. 1999;7:465–467.

Mercer RC, Ma L, Watts JC, et al. The prion protein modulates A-type K⁺ currents mediated by Kv4.2 complexes through dipeptidyl aminopeptidase-like protein 6. *J Biol Chem.* 2013;288:37241–37255.

Prusiner SB. Molecular biology and genetics of neurodegenerative diseases caused by prions. Adv Virus Res. 1992;41:241-280.

Prusiner SB. Prions, prions, prions, Curr Top Microbiol Immunol. Berlin: Springer-Verlag; 1996.

Prusiner SB. A unifying role for prions in neurodegenerative diseases. Science. 2012;336:1511–1512.

Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG. Clinical virology. ed 3 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2009.

Takada LT, Geschwind MD. Prion diseases. Semin Neurol. 2013;33:348-356.

Websites

Centers for Disease Control and Prevention: Prion diseases. www.cdc.gov/ncidod/dvrd/prions/. Acessado em 29 de abril de 2015. Freudenrich CC: How mad cow disease works. http://science.howstuffworks.com/mad-cow-disease6.htm. Acessado em 29 de abril de 2015.

Genetics Home Reference: Prion disease. http://ghr.nlm.nih.gov/condition=priondisease. Acessado em 29 de abril de 2015. National Prion Disease Pathology Surveillance Center: Homepage. www.cjdsurveillance.com/. Acessado em 20 de maio de 2015.

SEÇÃO 6

Micologia

Cai	oítulo 57	7: Classificad	cão. Estrutura	e Replica	ção dos Fungos

Capítulo 58: Patogênese das Doenças Fúngicas

Capítulo 59: O Papel dos Fungos na Doença

Capítulo 60: Diagnóstico Laboratorial das Doenças Fúngicas

Capítulo 61: Agentes Antifúngicos

Capítulo 62: Micoses Superficiais e Cutâneas

Capítulo 63: Micoses Subcutâneas

Capítulo 64: Micoses Sistêmicas Causadas por Fungos Dimórficos

Capítulo 65: Micoses Oportunistas

Capítulo 66: Infecções Fúngicas ou Similares de Etiologia Incomum ou Incerta

Capítulo 67: Micotoxinas e Micotoxicoses

CAPÍTULO 57

Classificação, Estrutura e Replicação dos Fungos

Este capítulo apresenta uma visão geral da classificação, estrutura e reprodução dos fungos. Serão discutidos os aspectos básicos de sua organização celular, sua morfologia, assim como a classificação clínica das micoses humanas. Simplificamos propositadamente a taxonomia dos fungos e usamo-la para destacar os grandes filos (*philums*) de fungos que causam doenças em seres humanos: a Ascomycota (Ascomicetos), o Basidiomycota (Basidiomicetos), o Glomeromycota (Mucormicetos) e o Microspora (Microsporídios).

A Importância dos Fungos

Os fungos representam um diverso grupo de organismos ubíquos que tem como principal objetivo degradar a matéria orgânica. Todos os fungos podem existir como heterotróficos ou **saprófitas** (organismos que se nutrem de materiais mortos ou em decomposição), **simbiontes** (organismos que vivem em conjunto com benefício mútuo), **comensais** (quando vivem em estreita relação em que apenas um organismo é beneficiado e o outro não é prejudicado), ou como **parasitas** (organismos que vivem à custa de outro e esta relação é prejudicial ao hospedeiro).

Os fungos emergiram nas últimas décadas como a principal causa de doenças em humanos (Tabela 57-1), especialmente entre indivíduos imunossuprimidos ou hospitalizados com doenças de base graves. Entre esses pacientes, os fungos atuam como patógenos oportunistas, causando infecções de altas morbidade e mortalidade. A incidência total de micoses invasivas continua aumentando com o tempo, e a lista de fungos patógenos oportunistas aumenta da mesma maneira a cada ano. Em resumo, não existem fungos não patogênicos. Este aumento das infecções fúngicas pode ser atribuído ao crescente aumento do número de pacientes imunossuprimidos, incluindo transplantados, portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), pacientes com câncer sob uso de quimioterapia e aqueles com doença de base grave submetidos a procedimentos invasivos.



Tabela 57-1

Taxas de Incidência e Mortalidade de Determinadas Infecções Fúngicas Invasivas

Patógeno	Incidência (N° de Casos por Ano)	Taxas de Mortalidade (% em Populações Infectadas)
Candida spp.	> 400.000	46–75
Cryptococcus neoformans	> 1.000.000	20–70
Aspergillus spp.	> 200.000	30–95
Pneumocystis jirovecii	> 400.000	20–80
Agentes de micose endêmica	> 60.000	< 1–70
Agentes de mucormicose	> 10.000	30–90

Modificada de Brown GD, Denning DW, Gow NA, et al: Hidden killers: human fungal infections, Sci Transl Med 4:165rv13, 2012.

Taxonomia, Estrutura e Reprodução dos Fungos

Os fungos são classificados em seu próprio reino, o reino Fungi. Eles são organismos eucariotas que se distinguem dos demais por terem uma parede celular rígida composta de quitina, glicana e uma membrana plasmática em que o ergosterol (esterol) é o principal componente que substitui o colesterol (Fig. 57-1).

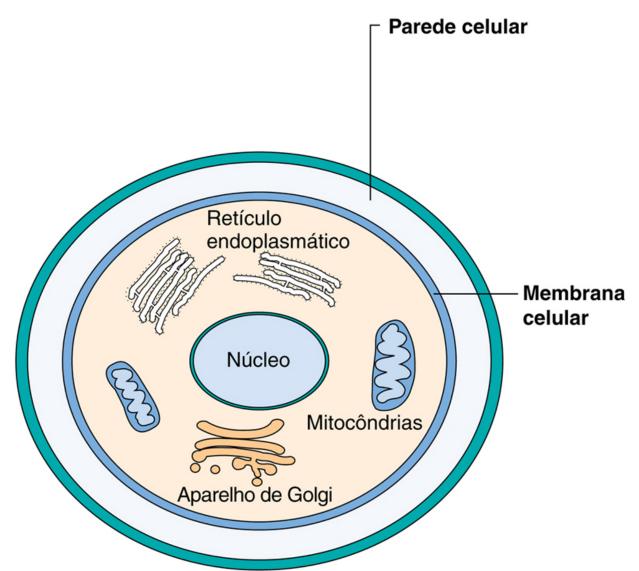
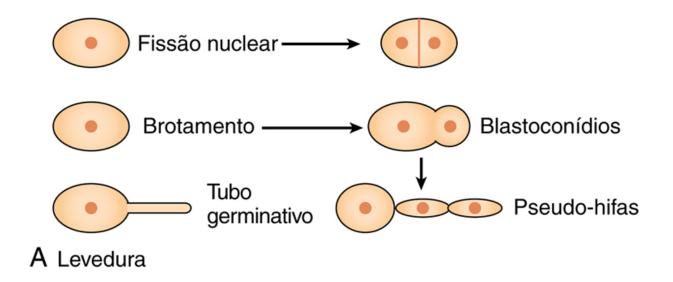
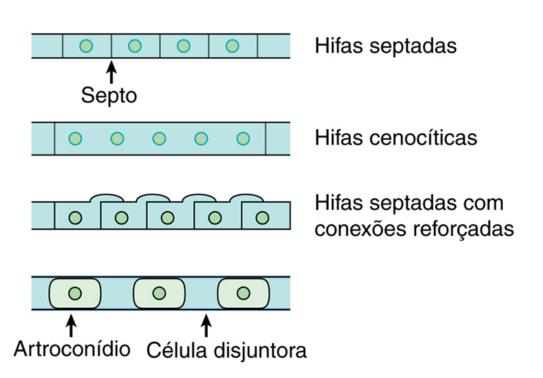


FIGURA 57-1 Diagrama de uma célula fúngica.

A taxonomia clássica dos fungos se baseia fundamentalmente na morfologia e na formação dos esporos. No entanto, cada vez mais as características estruturais, bioquímicas e moleculares são consideradas na classificação, resultando em mudanças na denominação taxonômica original. O advento da sequenciação rápida de DNA resultou em uma revolução na taxonomia fúngica com base na abordagem filogenética para reconhecimento de espécies que se baseia na análise comparativa dos caracteres variáveis de ácido nucleico para definir uma espécie fúngica. Assim, uma espécie é definida como um grupo de organismos que compartilham concordância de várias genealogias genéticas (sequências de DNA em diferentes localizações gênicas), em vez de organismos que compartilham uma morfologia comum ou que podem acasalar juntos.

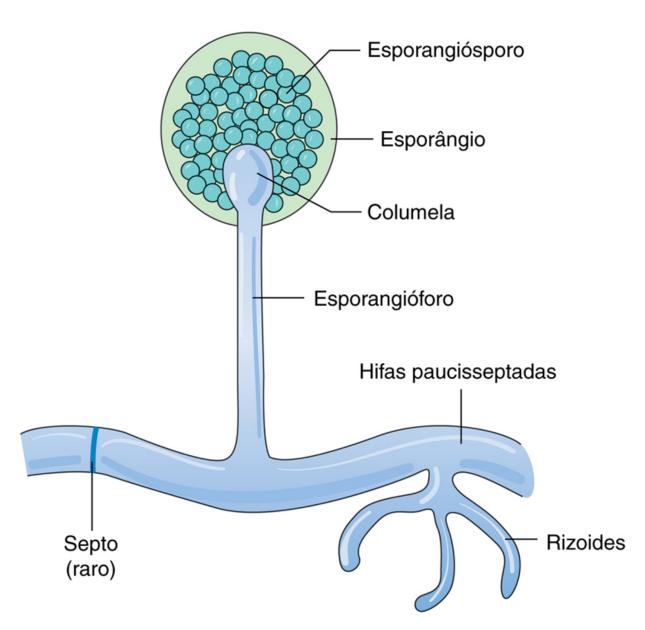
Os fungos podem ser "uni-" ou multicelulares. O agrupamento mais simples baseado em sua morfologia são leveduras e fungos filamentosos. A levedura pode ser definida morfologicamente como uma célula que se reproduz por brotamento ou fissão (Fig. 57-2), em que a célula progenitora, ou "célula-mãe", se modifica e dá origem a uma descendência, ou "célula-filha". As células-filhas podem alongar-se e formar estruturas com formato de salsicha chamadas pseudo-hifas. As leveduras são geralmente unicelulares e produzem colônias redondas, pastosas ou mucoides em ágar. Os fungos filamentosos, por outro lado, são organismos multicelulares constituídos de estruturas tubulares, chamadas de hifas (Fig. 57-2), que se alongam na extremidade em um processo conhecido como extensão apical. As hifas podem ser cenocíticas (asseptadas ou com poucos septos) ou septadas (divididas por paredes transversais) (Fig. 57-2). As hifas se mantêm unidas para produzir uma estrutura semelhante a um tapete chamada de micélio. As colônias dos fungos filamentosos são frequentemente descritas como filamentosas, aveludadas ou algodonosas. Quando se desenvolvem em ágar ou outras superfícies sólidas, os fungos filamentosos produzem estruturas denominadas hifas vegetativas, que crescem sobre ou entre a superfície do meio de cultura, e também hifas que se projetam acima da superfície do meio, chamadas de hifas aéreas. As hifas aéreas podem produzir estruturas especializadas conhecidas como conídios (estrutura de reprodução assexuada) (Fig. 57-3). Os conídios podem ser produzidos por um processo blástico (brotamento) ou processo tálico, em que fragmentos de hifas dão origem a células individuais ou artroconídios. Os conídios são facilmente dispersos pelo ar e servem para disseminar o fungo. O tamanho, a forma e os aspectos do desenvolvimento dos conídios são utilizados como meio de identificação para o gênero e espécie dos fungos. Muitos fungos de importância clínica são denominados dimórficos, porque podem existir tanto sob a forma de levedura como de fungo filamentoso.



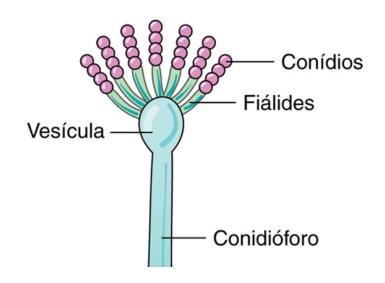


B Fungo filamentoso

FIGURA 57-2 Morfologia das células fúngicas. **A,** Células de leveduras que se reproduzem por fissão nuclear e por formação de blastoconídios. O alongamento de células de leveduras em brotamento para formar pseudo-hifas é mostrado, assim como também a formação de um tubo germinativo. **B,** Tipos de hifas vistas em vários fungos filamentosos.



A Esporangiósporos Zigomiceto (*Rhizopus* spp.)



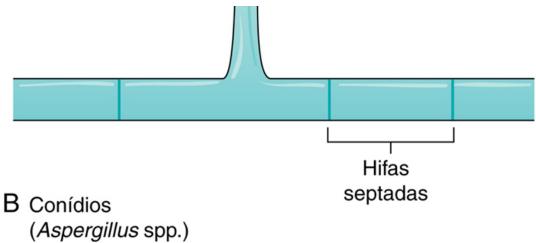


FIGURA 57-3 Exemplos de formação de esporos assexuados e estruturas associadas vistas em um zigomiceto (**A**) e *Aspergillus* spp. (**B**).

A maioria dos fungos apresenta respiração aeróbia, ainda que alguns sejam anaeróbios facultativos (fermentadores) e outros sejam estritamente anaeróbios. Seu metabolismo é heterotrófico e os mesmos são bioquimicamente versáteis na produção primária (p.ex., ácido cítrico, etanol e glicerol) e metabólitos secundários (p.ex., antibióticos [penicilina], amanitinas, aflatoxinas). Em relação às bactérias, os fungos são de crescimento lento, com tempo de duplicação celular de horas em vez de minutos.

Um esquema taxonômico simplificado listando as quatro principais classes de fungos de importância clínica é mostrado na Tabela 57-2. Entre centenas de milhares de diferentes fungos, apenas cerca de 200 são conhecidos como causas de doença em humanos, embora este número pareça estar aumentando.



Tabela 57-2

Fungos de Importância Clínica (Reino Fungi)

Designação Taxonômica	Gêneros Representativos	Doença Humana
Filo Glomeromycota	(Mucormicetos)	
Ordem: Mucorales	Rhizopus, Mucor, Lichtheimia, Saksenaea	Mucormicose: oportunistas em pacientes com diabetes, leucemia, queimaduras graves ou desnutrição; infecções rinocerebrais
Ordem: Entomophthorales	Basidiobolus, Conidiobolus	Entomoftoromicose: infecções subcutâneas e gastrointestinais
Filo: Basidiomycota (Basidiomicetos)	Teleomorfos de Cryptococcus, Malassezia, e Trichosporon spp.	Criptococose e numerosas micoses
Filo: Ascomycota (As	scomicetos)	
Classe: Pneumocistidomicetos	Pneumocystis jirovecii	Pneumonia por Pneumocystis
Classe: Sacaromicetos	Teleomorfos de Candida spp.; Saccharomyces	Numerosas micoses
Classe: Eurotiomicetos Ordem: Onygenales	Arthroderma (teleomorfos de Trichophyton e Microsporum); Ajellomyces (teleomorfos de Blastomyces e Histoplasma spp.)	Dermatofitoses, micoses sistêmicas
Ordem: Eurotiales	Teleomorfos de Aspergillus spp.	Aspergilose
Classe: Sordariomicetos Ordem: Hypocreales	Teleomorfos de Fusarium spp.	Ceratite e outras micoses invasivas
Ordem: Microascales	Pseudallescheria (teleomorfos de Scedosporium spp.)	Pneumonia, micetoma, micoses invasivas
Filo: Microspora (Microsporídios)	Encephalitozoon, Enterocytozoon, Nosema, Trachipleistophora	Ceratoconjuntivite, sinusite, pneumonite, diarreia, encefalite, infecção disseminada

Modificada de Brandt ME, Warnock DW: Taxonomy and classification of fungi. In Versalovic J, et al, editors: *Manual of clinical microbiology*, ed 10, Washington, DC, 2011, American Society for Microbiology Press.

Os fungos reproduzem-se pela formação de esporos, que podem ser sexuados (envolvendo meiose, precedida de fusão do protoplasma e fusão dos dois núcleos compatíveis) ou assexuados (envolvendo somente mitose). Os fungos Ascomycota,

Basidiomycota, Glomeromycota e Microspora produzem ambos os esporos, sexuados e assexuados (Tabela 57-3). A forma **teleomorfa** está relacionada com a formação de esporos sexuados, e forma **anamorfa**, à formação de esporos assexuados. O fato de um mesmo fungo possuir estado anamorfo e teleomorfo implica uma nomenclatura diferente para um mesmo agente (p.ex., *Ajellomyces capsulatum* [teleomorfo] e *Histoplasma capsulatum* [anamorfo]) e é uma fonte de confusão para não micologistas.



Características Biológicas, Morfológicas e Reprodutivas de Fungos Patogênicos

Classe dos Organismos	Gêneros Representativos	Morfologia	Reprodução
Mucormicetos	Rhizopus, Mucor, Lichtheimia corymbifera, Absidia, Basidiobolus	Largas hifas cenocíticas de parede delgada, de 6-25 µm, com lados não paralelos; esporos contidos no interior do esporângio; estruturas semelhantes a raízes chamadas de <i>rizoides</i> , características de alguns gêneros	Assexuada: produção de esporangiósporos dentro do esporângio. Sexuada: produção de zigosporos formados por fusão de tipos compatíveis para acasalamento
Basidiomicetos	Leveduras basidiomicetosas anamórficas (Cryptococcus, Malassezia, Trichosporon)	Leveduras em brotamento, hifas e artroconídios. Hifas que produzem basidiósporos (não vistos na natureza ou em pacientes). Hifas com conexões reforçadas	Assexuada: produção de conídios por brotamento a partir de uma célula-mãe ou dentro de um fragmento de hifa. Sexuada: fusão de núcleos compatíveis seguida de meiose para formar basidiósporos ou não identificada
Pneumocistidomicetos	Pneumocystis jirovecii	Formas tróficas e estruturas semelhantes a cistos	Assexuada: fissão binária. Sexuada: fusão de tipos compatíveis para acasalamento para formar um zigoto; compartimentalização de esporos no interior do cisto.
Sacaromicetos Candida e Saccharomyces		Leveduras em brotamento e hifas, pseudo-hifas	Assexuada: produção de conídios através de brotamento a partir de uma célula-mãe. Sexuada: não vista ou por conjugação entre duas células isoladas ou através de conjugação do tipo "mãe-brotamento"
Eurotiomicetos	Dermatófitos, Blastomyces, Histoplasma, Aspergillus, Fusarium, espécies de Scedosporium	Leveduras em brotamento, hifas septadas, conídios assexuados desenvolvidos em estruturas especializadas	Assexuada: produção de conídios por meio de brotamento de uma célula-mãe. Sexuada: ascósporos produzidos em uma estrutura especializada chamada de asco, ou não vista

À luz dessa confusão e para reconhecer o impacto da taxonomia molecular, o código da nomenclatura micológica foi modificado para aplicar uma política em que um determinado fungo terá apenas um nome; deixará de ser necessário fornecer nomes diferentes para diferentes morfologias do mesmo fungo. Todos os nomes legítimos propostos para uma espécie podem servir como o nome correto para essa espécie. Nessa altura, é permitido referir-se a um fungo pela sua designação assexuada se essa for a forma geralmente obtida em cultura. Por exemplo, *Histoplasma capsulatum* é a anamorfa

do ascomicete *Ajellomyces capsulatum*. A anamorfa é o estágio que é encontrado com mais frequência em cultura, e apenas sob condições especiais é o estágio sexual formado. Assim, o isolado clínico é conhecido como *Histoplasma capsulatum*.

Os esporos assexuados consistem basicamente em dois tipos: **esporangiósporos** e **conídios**. Os esporangiósporos são esporos assexuados produzidos no interior de uma estrutura chamada **esporângio** (Fig. 57-3) e são estruturas pertencentes aos Mucorales, tais como *Rhizopus* e *Mucor* spp. Conídios são esporos assexuados que se desenvolvem em estruturas especializadas, como visto em *Aspergillus* spp. (Fig. 57-3), *Penicillium* spp. e os dermatófitos.

Ascomycota (Ascomicetos)

O filo Ascomycota contém quase 50% de todas as espécies de fungos nomeadas e responde por aproximadamente 80% dos fungos de importância médica. A reprodução sexual leva ao desenvolvimento de ascósporos, que são produzidos em uma estrutura especializada sacular conhecida como *ascus*. A reprodução assexuada consiste na produção de conídios a partir de uma célula germinativa ou conidiogênica.

O Ascomycota consiste em quatro classes de importância médica: o Pneumocistidomicetos, Sacaromicetos, Eurotiomicetos e Sordariomicetos. A classe Pneumocistidomicetos contém o gênero *Pneumocystis*, anteriormente classificado como protozoário, mas agora transferido para o reino Fungi com base em comparações de sequências de genes. O Sacaromicetos contém as leveduras de ascomicetos, enquanto o Eurotiomicetos e Sordariomicetos contêm os ascomicetos filamentosos.

Pneumocistidomicetos: Pneumocistidomicetos é uma nova classe que foi há pouco tempo descrita para incluir um organismo, *Pneumocystis carinii*, anteriormente considerado um protozoário. A reclassificação do *Pneumocystis* foi baseada em evidências moleculares de que ele estava mais intimamente relacionado com o ascomiceto *Schizosaccharomyces pombe*. Estudos moleculares posteriores resultaram na denominação de *Pneumocystis jirovecii* em cepas derivadas de humanos. O organismo existe em forma vegetativa que se reproduz assexuadamente por fissão binária. A fusão de tipos compatíveis para acasalamento resulta em um cisto esférico que na maturidade contém oito esporos.

Sacaromicetos: A classe dos Sacaromicetos contém as leveduras de Ascomicetos (ordem Saccharomycetales), que são caracterizadas por leveduras vegetativas que se reproduzem por brotamento ou fissão (Fig. 57-2A). Muitos membros da ordem Saccharomycetales têm um estágio anamórfico pertencentes ao gênero *Candida* (Tabela 57-2). Esse gênero, que consiste em cerca de 200 espécies anamórficas, tem teleomorfos em mais de 10 diferentes gêneros, incluindo *Clavispora, Debaromyces, Issatchenkia, Kluyveromyces* e *Pichia*. Sob o conceito de "um fungo, um nome", muitos desses serão renomeados.

Eurotiomicetos: A classe Eurotiomicetos apresenta reprodução assexuada que leva à formação de paredes finas (asco) as quais contêm os ascósporos haploides. Essa classe possui 12 ordens que incluem espécies patogênicas para os humanos. Entre as mais importantes, estão a ordem Onygenales, que contempla os dermatófitos e alguns agentes patogênicos sistêmicos dimórficos (incluindo *Histoplasma capsulatum* e *Blastomyces dermatitides*); a ordem Eutoriales, que contém os teleomorfos dos gêneros anamórfico *Aspergillus* e *Penicillium*.

Sordariomicetos: Na classe Sordariomicetos, a ordem Hypocreales contém os teleomorfos do gênero anamórfico *Fusarium*, e a ordem Microascales contém os teleomorfos (*Pseudallescheria*) do gênero anamórfico *Scedosporium* (Tabela 57-2). Além disso, os teleomorfos de vários fungos de importância clínica melanizados (dematiáceos) pertencem a ordens dessa classe.

Basidiomycota (Basidiomicetos)

A maioria dos membros dos Basidiomicetos tem uma forma filamentosa separada, mas alguns são leveduras típicas. A reprodução sexual conduz à formação de basidiosporos haploides na zona externa de uma célula germinativa denominada **basídio**. Os patógenos humanos mais importantes do filo Basidiomicetos são as leveduras basidiomicetos com os estados anamórficos pertencentes aos gêneros *Cryptococcus*, *Malassezia* e *Trichosporon*. O gênero *Cryptococcus*, que contém mais de 30 espécies diferentes, tem teleomorfos (estados sexuais) que foram atribuídos aos gêneros *Filobasidium* e *Filobasidiella*.

Os basidiomicetos filamentosos são cada vez mais reconhecidos como causas de infecções fúngicas oportunistas. Em cultura, esses organismos produzem frequentemente colônias brancas, estéreis, de crescimento rápido com **conexões em clampe** (Fig. 57-2B) — excrescências hifais que formam uma derivação em torno do septo para facilitar a migração de um núcleo. Enquanto a maioria dos basidiomicetos filamentosos são fungos de decomposição da madeira, a causa mais frequentemente relatada de infecção humana é o *Schizophylum commune*.

Glomeromycota (Mucormicetos, anteriormente Zigomicetos)

Os Glomeromycota (Mucormicetos) incluem mofos filamentosos com hifas largas, cenocíticas, escassamente septadas. O subfilo Mucoromicotina tem sido proposto para acomodar os **Mucorales**, e o subfilo Entomoftoromicotina inclui o **Entomophthorales**. Esses fungos produzem **zigosporos sexuais** após a fusão dos dois tipos de acasalamento compatíveis. Os esporos assexuados da ordem Mucorales (Fig. 57-3) estão contidos em um esporângio (esporangiósporos). Os esporângios crescem nas extremidades de **esporangióforos** na forma de hastes que terminam em uma tumefação bulbosa

chamada **columela** (Fig. 57-3). A presença de estruturas em forma de raiz chamadas **rizoides** é útil na identificação de gêneros específicos dentro dos Mucorales. A ordem Mucorales é a mais importante clinicamente e inclui os gêneros *Lichtheimia* (anteriormente *Absidia*), *Mucor*, *Rhizopus* e *Rhizomucor*. A outra ordem, Entomophthorales, é menos comum e inclui os gêneros *Basidiobolus* e *Conidiobolus*. Esses organismos causam mucormicose subcutânea tropical. Os esporos assexuados são produzidos individualmente em esporóforos curtos e são violentamente ejetados quando maduros.

Microspora (Microsporídios)

Microsporídios são eucariotas formadores de esporos, intracelulares obrigatórios e unicelulares. Anteriormente categorizados como protistas, os organismos do filo Microspora foram recentemente designados para os reino Fungi com base em estudos genéticos que indicam que esses organismos eram derivados de um antepassado quitrídeo endoparasitário do primeiro ramo divergente da árvore filogenética fúngica. Além disso, as características estruturais dos organismos, tais como a presença de quitina na parede do esporo, núcleos diplocarióticos e placas espiraladas elétron-densas associadas ao envelope nuclear, sugerem uma possível relação entre fungos e microsporídeos. Por outro lado, o ciclo de vida dos microsporídios é único e diferente de qualquer outra espécie de fungos. Mais de 160 gêneros microsporídios e 1.300 espécies, que são patogênicas em cada grande grupo de animal, têm sido identificados. Atualmente, as infecções humanas demonstraram envolver nove gêneros diferentes (Anncaliia, Encephalitozoon, Endoreticulatus, Enterocytozoon, Nosema, Pleistophora, Vittaforma, Tubulinosema e Trachipleistophora), bem como microsporídios não classificados que foram atribuídos ao grupo coletivo Microsporidium.

Classificação das Micoses Humanas

Além da classificação taxonômica formal dos fungos, as infecções fúngicas podem ser classificadas de acordo com os tecidos infectados, assim como pelas características específicas dos grupos de organismos. Essas classificações incluem as micoses superficiais, cutâneas e subcutâneas, as micoses endêmicas e as micoses oportunistas (Tabela 57-4).



Tabela 57-4

Classificação Clínica das Micoses Humanas e Agentes Etiológicos Representativos

Micoses Superficiais	Micoses Cutâneas e Subcutâneas	Micoses Endêmicas	Micoses Oportunistas
Pedra negra	Dermatofitoses	Blastomicose	Aspergilose
Piedraia horate	Microsporum spp.	Blastomyces dermatitidis	Aspergillus fumigatus
Tinea nigra	Trichophyton spp.	Histoplasmose	A. flavus
Hortae werneckii	Epidermophyton floccosum	Histoplasma capsulatum	A. niger
Pitiríase versicolor	Tinea unguium	Coccidioidomicose	A. terreus
Malassezia furfur	Trichophyton spp.	Coccidioides immitis/posadasii	Candidíase
Pedra branca	E. floccosum	Peniciliose	Candida albicans
Trichosporon spp.	Onicomicose	Talaromyces (Penicillium) marneffei	C. glabrata
	Candida spp.	Paracoccidioidomicose	C. parapsilosis
	Aspergillus spp.	Paracoccidioides brasiliensis	C. tropicalis
	Trichosporon spp.	Emonsiase	Criptococose
	Geotrichum spp.	Emmonsia pasteuriana	Cryptococcus neoformans
	Ceratite micótica	,	Tricosporonose
	Fusarium spp.		Trichosporon spp.
	Aspergillus spp.		Hialo-hifomicose
	Candida spp.		Acremonium spp.
	Cromoblastomicose		Fusarium spp.
	Fonsecaea spp.		Paecilomyces spp.
	Phialophora spp.		Scedosporium spp.
			Mucormicose
			Rhizopus spp.
			Mucor spp.
			Lichtheimia corymbifera Absidia spp.
			Feo-hifomicose
			Alternaria spp.
			Curvularia spp.
			Bipolaris spp.
			Wangiella spp.
			Pneumocistose
			Pneumocystis jirovecii
			Microsporidiose

Micoses Superficiais

As micoses superficiais são aquelas infecções que estão limitadas às superfícies da pele e dos pelos. Elas não são destrutivas e são apenas de importância cosmética. A infecção clínica denominada de **pitiríase versicolor** é caracterizada pela descoloração ou despigmentação e descamação da pele. *Tinea nigra* se refere a manchas pigmentadas em castanho ou negro localizadas principalmente nas palmas das mãos. As entidades clínicas da pedra negra e da pedra branca envolvem os pelos e são caracterizadas por nódulos compostos por hifas que envolvem as hastes dos pelos. Os fungos associados a estas infecções superficiais incluem *Malassezia* spp., *Hortae weneckii*, *Piedraia hortae* e *Trichosporon* spp.

Micoses Cutâneas

As micoses cutâneas são infecções da camada queratinizada da pele, pelos e unhas. Essas infecções podem provocar uma resposta do hospedeiro e se tornar sintomáticas. Os sinais e sintomas incluem prurido, descamação, pelos tonsurados, lesões arredondadas na pele e unhas espessadas e opacas. Os dermatófitos são fungos classificados nos gêneros *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Microsporum*. As infecções da pele que envolvem estes organismos são chamadas de **dermatofitoses**. *Tinea unguium* se refere a infecções nas unhas que envolvem estes agentes. As onicomicoses incluem infecções das unhas causadas pelos dermatófitos, assim como também fungos não dermatófitos (p.ex., *Candida*. e *Aspergillus* spp.).

Micoses Subcutâneas

As micoses subcutâneas envolvem as camadas mais profundas da pele, incluindo a córnea, os músculos e o tecido conjuntivo, e são causadas por um largo espectro de fungos taxonomicamente diversos. Os fungos ganham acesso aos tecidos mais profundos em geral por inoculação traumática e permanecem localizados, causando a formação de abscessos e úlceras que não cicatrizam. O sistema imunológico do hospedeiro reconhece os fungos, resultando em destruição tecidual variável e frequentemente em uma hiperplasia epiteliomatosa. As infecções podem ser causadas por fungos filamentosos hialinos, tais como *Acremonium* spp. e *Fusarium* spp., e por fungos pigmentados ou dematiáceos, tais como *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., e *Exophiala* spp. (feo--hifomicoses, cromoblastomicoses). As micoses subcutâneas tendem a permanecer localizadas e raras vezes se disseminam sistemicamente.

Micoses Endêmicas

As micoses endêmicas são infecções fúngicas causadas por patógenos fúngicos dimórficos clássicos: *H. capsulatum, B. dermatitidis, Emmonsia pasteuriana, Coccidioides immitis, Coccidioides posadasii, Paracoccidioides brasiliensis* e *Talaromyces (Penicillium) marneffei*. Esses fungos exibem dimorfismo térmico (existem como leveduras ou esférulas a 37°C, e como fungos filamentosos a 25°C) e geralmente estão confinados a regiões geográficas onde eles ocupam nichos ambientais ou ecológicos específicos. As micoses endêmicas são com frequência referidas como **micoses sistêmicas**, porque esses organismos são verdadeiros patógenos e podem causar infecções em indivíduos saudáveis. Recentemente, o fungo dimórfico *Penicillium marneffei* foi adicionado à lista de agentes causadores de micoses endêmicas. Todos esses agentes produzem uma infecção primária no pulmão, com subsequente disseminação para outros órgãos e tecidos.

Micoses Oportunistas

As micoses oportunistas são infecções atribuídas aos fungos que são por via de regra encontrados como comensais humanos ou no ambiente. Com exceção de *Cryptococcus neoformans*, estes organismos exibem uma virulência inerentemente baixa ou limitada, e causam infecções em indivíduos que estão debilitados, imunossuprimidos, ou são portadores de aparelhos protéticos implantados ou cateteres vasculares. Praticamente, qualquer fungo pode atuar como um patógeno oportunista, e a lista destes se torna maior a cada ano. Os patógenos fúngicos oportunistas mais comuns são as leveduras *Candida* spp. e *Cryptococcus neoformans*, o fungo filamentoso *Aspergillus* spp. e *Pneumocystis jirovecii*. Devido à sua inerente virulência, *Cryptococcus neoformans* é com mais frequência considerado um patógeno "sistêmico". Embora este fungo possa causar infecção em indivíduos imunologicamente normais, ele é claramente visto com mais frequência como um patógeno oportunista na população imunocomprometida.

Resumo

Com o número cada vez maior de indivíduos em risco de infecções fúngicas, é imperativo que médicos "pensem em fungos" quando analisam uma infecção suspeita. A lista de patógenos fúngicos documentados é extensa, e não se pode mais ignorar ou desconsiderar os fungos como "contaminantes" ou clinicamente insignificantes quando isolados a partir de material clínico. É também considerado que o prognóstico e a resposta à terapia variem com o tipo de fungo que causa a infecção, assim como com o *status* imunológico do indivíduo. Desse modo, os médicos devem se tornar familiarizados com os vários fungos, seus aspectos epidemiológicos e patogênicos, e também com as abordagens ideais de diagnóstico e terapia. Estas questões serão discutidas em detalhe nos capítulos subsequentes de acordo com o esquema de classificação mostrado na Tabela 57-4.

Referências Bibliográficas

Brandt ME, Warnock DW. Taxonomy and classification of fungi. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology,*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Brandt ME, Park BJ. Think fungus—prevention and control of fungal infections. Emerg Infect Dis. 2013;19:1688–1689.

Brown GD, Denning DW, Gow NAR, et al. Hidden killers: human fungal infections. Sci Transl Med. 2012;4: 165rv13.

Hawksworth DL, Crous PW, Dianese JC, et al. The Amsterdam declaration on fungal nomenclature. IMA Fungus. 2011;2:105–112.

CAPÍTULO 58

Patogênese das Doenças Fúngicas

Embora as bases moleculares e genéticas da patogênese bacteriana e viral sejam bem conhecidas, nosso entendimento sobre a patogênese das infecções fúngicas é limitado. Relativamente poucos fungos são virulentos o suficiente para serem considerados **patógenos primários** (Tabela 58-1), os quais são aqueles capazes de iniciar uma infecção em um hospedeiro normal, aparentemente imunocompetente. Eles são aptos a colonizar o hospedeiro, encontrar um nicho microambiental adequado com substratos nutricionais suficientes, evitar ou subverter os mecanismos de defesa do hospedeiro, e então se multiplicar dentro do nicho microambiental. Entre os patógenos fúngicos primários conhecidos, estão quatro fungos ascomicetos, os patógenos dimórficos endêmicos *Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis* (e *C. posadasii*), *Histoplasma capsulatum* e *Paracoccidioides brasiliensis*. Cada um desses micro-organismos possui supostos fatores de virulência que lhes permitem romper ativamente as defesas do hospedeiro que em geral restringem o crescimento invasivo de outros microorganismos (Tabela 58-1). Quando um grande número de conídios de algum desses quatro fungos é inalado por humanos, mesmo se esses indivíduos forem saudáveis e imunocompetentes, geralmente ocorrem infecção e colonização, invasão tecidual e disseminação sistêmica do patógeno. Como ocorre com a maioria dos patógenos microbianos primários, esses fungos podem também agir como **patógenos oportunistas**, uma vez que as formas mais graves de cada uma dessas micoses são vistas com mais frequência em indivíduos com comprometimento das defesas imunes inata ou adquirida.

Características de Patógenos Fúngicos Primários e Oportunistas

	Habitat/Infecção	Patogênese	Fatores de Virulência Presumidos	Formas Clínicas da Micose
Patógenos Primá	rios			
Blastomyces dermatitidis Fase saprofítica • Micélio septado e conídios Fase parasitária • Leveduras com brotamento de base larga	Habitat saprofítico • Solo e restos orgânicos • Área endêmica sudoeste dos Estados Unidos e Vale dos Rios Ohio-Mississipi Modo de infecção • Inalação de conídios	Conídios inalados se convertem em levedura; invasão localizada do hospedeiro pela levedura provoca reação inflamatória; a levedura escapa ao reconhecimento pelos macrófagos e se dissemina através da corrente sanguínea	Crescimento a 37°C Dimorfismo térmico Modulação das interações entre a levedura e o sistema imune do hospedeiro Geração de resposta TH2 Desprendimento de WI-1	Blastomicose pulmonar primária Blastomicose pulmonar crônica Blastomicose disseminada Cutânea Osso, trato geniturinário e cérebro
Coccidioides immitis (posadasii) Fase saprofítica • Hifas septadas e artroconídios Fase parasitária • Esférulas com endósporos	Habitat saprofítico • Solo do deserto: sudoeste dos EUA, México e regiões das Américas Central e do Sul Modo de infecção • Inalação de artroconídios • Inoculação percutânea (rara)	Artroconídios inalados alcançam os alvéolos; convertem-se em esférulas, que geram endósporos; os endósporos são fagocitados, mas sobrevivem; grandes (60 – 100 μm) esférulas escapam à fagocitose; ambiente alcalino permite a sobrevivência dentro do fagossomo	Crescimento a 37°C Dimorfismo térmico Resistência dos conídios à destruição fagocítica Estímulo de uma resposta TH2 ineficiente Produção de urease Produção de proteinases extracelulares Mimetismo molecular	Infecção pulmonar inicial Coccidioidomicose pulmonar crônica Coccidioidomicose disseminada Meningite Osso e articulações Trato genitourinário Cutânea Oftálmica
Histoplasma capsulatum Fase saprofítica • Hifas septadas, microconídios e macroconídios tuberculados Fase parasitária • Pequenas leveduras intracelulares com brotamentos	Habitat saprofítico • Solo enriquecido com fezes de aves/morcegos • Metade oriental dos Estados Unidos, a maior parte da América Latina, partes da Ásia, Europa, Oriente Médio; a variedade duboisii ocorre na África Modo de infecção • Inalação de conídios	Conídios inalados se convertem em leveduras; leveduras são ingeridas por macrófagos; sobrevivem e proliferam dentro do fagossomo; algumas formas de levedura permanecem hibernantes dentro dos macrófagos, outras proliferam e destroem os macrófagos, liberando células-filhas	 Crescimento a 37°C Dimorfismo térmico Sobrevivência nos macrófagos Modulação do pH do fagossomo Captação de ferro e cálcio Alteração da composição da parede celular 	Pulmonar clinicamente assintomática e "disseminação críptica" Histoplasmose pulmonar aguda Mediastinite e pericardite Histoplasmose pulmonar crônica Mucocutânea Disseminada
Paracoccidioides brasiliensis Fase saprofítica • Hifas septadas, conídios Fase parasitária • Leveduras com vários brotamentos	Habitat saprofítico • Solo e vegetação • Américas Central e do Sul Modo de infecção • Inalação de conídios	Conídios inalados se convertem em grandes leveduras com brotamentos multipolares; ingeridos, mas não eliminados pelos macrófagos; podem permanecer hibernantes por até 40 anos; disseminação para a mucosa oral e nasofaríngea	Crescimento a 37°C Dimorfismo térmico Sobrevivência intracelular Influências hormonais Alterações da parede celular Resposta TH2 ineficiente contra gp43	Diversas manifestações clínicas Envolvimento crônico de um único órgão Envolvimento crônico multifocal (pulmões, boca, nariz) Doença juvenil progressiva: linfonodos, envolvimento cutâneo e visceral

	Habitat/Infecção	Patogênese	Fatores de Virulência Presumidos	Formas Clínicas da Micose
Espécies de <i>Candida</i> Fases saprofíticas e parasitárias semelhantes: leveduras com brotamentos, hifas, pseudo- hifas	Habitat saprofítico • Mucosa gastrointestinal, mucosa vaginal, pele, unhas Modo de infecção • Translocação gastrointestinal • Cateteres intravasculares	Supercrescimento em mucosas com subsequente invasão; geralmente barreira de mucosa debilitada, disseminação hematogênica. Transferência das mãos de profissionais da saúde para o cateter; colonização do cateter e disseminação hematogênica	Crescimento a 37°C Transição brotamento-hifa Aderência Hidrofobicidade da superfície celular Mananas na parede celular Proteases e fosfolipases Mudanças fenotípicas	Colonização simples de mucosas Candidíase mucocutânea Comprometimento oral/vaginal Disseminação hematogênica Candidíase hepatoesplênica Endoftalmite
Cryptococcus neoformans Fases saprófitas e parasitárias semelhantes: leveduras encapsuladas com brotamento	Habitat saprofítico • Solo enriquecido com fezes de aves (pombos) Modo de infecção • Inalação de leveduras • Inoculação percutânea	Células leveduriformes inaladas são ingeridas por macrófagos; sobrevivência intracelular; cápsula inibe a fagocitose; cápsula e melanina protegem da lesão oxidativa, disseminação hematogênica e linfática para o cérebro	Crescimento a 37°C Cápsula polissacarídica Melanina MATalfa	Pneumonia criptocócica primária Meningite Disseminação hematogênica Criptococose genitourinária (prostática) Criptococose primária cutânea
Espécies de Aspergillus Fase saprofítica • Micélio septado, conídios e cabeças conidiais Fase parasitária • Micélio septado, conídios e cabeças conidiais geralmente só vistos em lesões cavitárias	Habitat saprofítico • Solo, plantas, água, pimenta, ar Modo de infecção • Inalação de conídios • Transferência para feridas através de curativos/ataduras contaminadas	Conídios inalados se ligam ao fibrinogênio e à laminina no alvéolo; conídios germinam e hifas secretam proteases e invadem o epitélio; invasão vascular resulta em trombose e infarto tecidual; disseminação hematogênica	Crescimento a 37°C Ligação a fibrinogênio e laminina Secreção de elastase e proteases Catalase Gliotoxina (?)	Aspergilose broncopulmonar alérgica Sinusite Aspergiloma Aspergilose invasiva Pulmão Cérebro Pele Gastrointestinal Coração

De Cole GT: Fungal pathogenesis. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: Clinical mycology, New York, 2003, Churchill Livingstone.

Em geral, indivíduos saudáveis e imunocompetentes apresentam alta resistência inata à infecção fúngica, apesar de serem constantemente expostos às formas infecciosas de diversos fungos presentes como parte da microbiota normal (endógenos) ou no ambiente (exógenos). Os patógenos fúngicos oportunistas, como *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus* spp., somente causam infecção quando ocorrem quebras nas barreiras protetoras da pele e membranas mucosas ou quando falhas no sistema imune do hospedeiro permitem a penetração, colonização e reprodução no hospedeiro (Tabela 58-1). Entretanto, mesmo nas infecções oportunistas, há fatores associados ao organismo, e não ao hospedeiro, que contribuem para a capacidade do fungo de causar doença (Tabela 58-1).

Patógenos Fúngicos Primários

Todos os patógenos fúngicos primários são agentes de infecções respiratórias e nenhum deles é parasita obrigatório. Cada um tem uma **fase saprofítica** caracterizada por hifas septadas fragmentadas, normalmente encontradas no solo ou em vegetais em decomposição e que se disseminam pelo ar. Da mesma maneira, a **fase parasitária** de cada fungo está adaptada ao crescimento a 37°C e à reprodução assexuada no nicho ambiental alternativo da mucosa respiratória do hospedeiro (Cap. 64, Fig. 64-1). Essa habilidade de existir em formas morfogenéticas alternadas (dimorfismo) é uma das várias características especiais (fatores de virulência) que permitem a esses fungos competirem com as condições ambientais hostis do hospedeiro (Tabela 58-1).

Blastomyces dermatitidis

Como os demais patógenos fúngicos dimórficos endêmicos, *B. dermatitidis* frequentemente causa uma infecção respiratória autolimitada (Cap. 64). Entretanto, a blastomicose se diferencia de outras micoses endêmicas pela alta incidência de doença clínica em comparação com as formas moderadas ou assintomáticas entre os indivíduos infectados em epidemias. O potencial patogênico de *B. dermatitidis* é ressaltado pela gravidade clínica da maioria dos casos esporádicos de blastomicose.

Os fatores importantes para a sobrevida *in vivo* de *B. dermatitidis*, como quaisquer patógenos dimórficos endêmicos, são a capacidade do patógeno inalado alcançar os alvéolos, sofrer transformação para uma outra fase (levedura ou esférula) capaz de se replicar a 37°C, e colonizar a mucosa respiratória. Após a inalação de conídios ou fragmentos de hifas de *B. dermatitidis*, os elementos da fase saprofítica do fungo supostamente entram em contato e aderem à camada epitelial dos

alvéolos, sofrendo transformação para a fase parasitária de levedura, em um processo chamado de **dimorfismo térmico**. Essa conversão de conídio (2 a 10 µm de diâmetro) para as formas maiores de levedura (8 a 30 µm de diâmetro) fornece uma importante vantagem à sobrevida ao fungo. Enquanto os conídios são pequenos o suficiente para serem rapidamente ingeridos e destruídos pelos neutrófilos humanos, as leveduras são capazes de resistir ao ataque fagocítico dos neutrófilos e das células mononucleares durante os estágios iniciais da resposta inflamatória. Em vez de se adaptarem ao microambiente intracelular dos fagolisossomas, como *H. capsulatum*, as leveduras de *B. dermatitidis* desprendem seu antígeno imunodominante da superfície da célula e, subsequentemente, modificam a composição de sua parede celular, permitindo que escapem ao reconhecimento pelos macrófagos. Assim, eles são capazes de colonizar tecidos e se disseminar pela corrente sanguínea.

Modulação das Interações entre as Leveduras e o Sistema Imune do Hospedeiro

O principal componente imunorreativo presente na superfície das células leveduriformes, mas não nos conídios de *B. dermatitidis*, é uma glicoproteína da parede celular de 120 kDa, WI-1. Essa glicoproteína parece ter participação fundamental na patogênese de *B. dermatitidis*, promovendo adesão da célula leveduriforme ao macrófago e induzindo uma potente resposta dos sistemas imune humoral e celular. WI-1 é expressa por todos os isolados virulentos de *B. dermatitidis* já examinados.

Aparentemente, cepas mutantes não virulentas de *B. dermatitidis* que expressam altos níveis de WI-1 em sua superfície celular são reconhecidas por macrófagos, fagocitadas, e rapidamente eliminadas do hospedeiro. Em contraste, cepas virulentas desse fungo desprendem grandes quantidades de WI-1 durante o crescimento, sendo capazes de evitar o reconhecimento pelos macrófagos por este processo. A apresentação de WI-1, quer se mantenha associada à superfície celular, quer seja desprendida da célula para o ambiente, é um aspecto fundamental da patogenicidade desse fungo.

A composição de carboidratos da parede celular da levedura também parece desempenhar uma função na apresentação e desprendimento de WI-1 e, portanto, na patogenicidade. Um dos principais componentes da parede celular da levedura é a 1,3-α-glucana. Há uma relação inversa entre a quantidade de 1,3-α-glucana presente na parede celular de *B. dermatitidis* e a quantidade de WI-1 detectável na superfície celular. Cepas virulentas de *B. dermatitidis* produzem leveduras que possuem paredes celulares espessadas contendo grande quantidade de 1,3-α-glucana e, quando maduras, apresentam pouca WI-1 detectável na sua superfície celular. De maneira oposta, cepas não virulentas exibem paredes finas com ausência de 1,3-α-glucana, mas com WI-1 abundante em sua superfície. Especula-se que a incorporação de 1,3-α-glucana na parede celular mascare a glicoproteína de superfície WI-1, desempenhando um papel na liberação de um antígeno modificado (componente de 85 kDa) no microambiente do local de infecção. Por mascarar o antígeno WI-1, a levedura é capaz de escapar ao reconhecimento por macrófagos e disseminar-se por via hematogênica. O desprendimento do componente de 85 kDa de WI-1 pode facilitar a evasão imune por ligação ou consumo de anticorpos opsonizados e complemento longe da superfície celular da levedura. Da mesma maneira, a liberação do componente WI-1 pode também saturar receptores de macrófago e diminuir a eficiência da ligação e fagocitose das leveduras.

Apresentação de Antígenos de Superfície Modula a Via das Células T Auxiliares da Resposta Imune

Há diferentes subpopulações de células T auxiliares CD4 (TH, do inglês, CD4 T *helper*) que secretam diversos padrões de citocinas em resposta a um estímulo antigênico. Após o encontro inicial com um antígeno, células TH podem se tornar polarizadas, secretando predominantemente interleucina (IL)-2 e interferon (IFN)-γ (padrão TH1) ou com predominância de IL-4, IL-5 e IL-10 (padrão TH2). IFN-γ e IL-2 ativam respectivamente macrófagos e células citotóxicas T e NK (*natural killer*), para a eliminação de organismos intracelulares, enquanto as citocinas TH2 favorecem o crescimento e diferenciação de células B, a mudança de isótipos para imunoglobulina (Ig)E e a diferenciação e ativação de eosinófilos, respostas que pedem produção e proteção contra alguns patógenos, mas que também foram relacionadas com alergia e reações de hipersensibilidade.

A resposta imune mediada por células T contra *B. dermatitidis* é essencial para imunoproteção contra esse patógeno. Camundongos imunizados com WI-1 desenvolveram uma forte resposta TH2 contra os antígenos. É notável que, em um modelo de infecção de blastomicose em camundongos, os animais infectados que desenvolveram características de uma resposta TH2 morreram com uma infecção crônica e progressiva, enquanto os animais infectados que desenvolveram uma resposta TH1 restringiram a disseminação do patógeno e foram capazes de responder à terapia antifúngica e se recuperar da doença. Portanto, uma forte resposta TH2 pode não ser útil na eliminação da infecção por *B. dermatitidis*, podendo até mesmo retardá-la. Por liberar grandes quantidades do fragmento de 85 kDa de WI-1, as células leveduriformes de *B. dermatitidis* podem enganar as duas vias da resposta imune por evasão da resposta celular e pelo estímulo de uma resposta humoral dominante, porém ineficaz.

Coccidioides immitis

C. immitis e C. posadasii são patógenos primários capazes de causar uma ampla variedade de lesões (Cap. 64). Esses fungos são endêmicos no deserto do sudoeste dos Estados Unidos e, embora demonstrem diferentes morfologias em suas fases saprofíticas e parasitárias, distinguem-se dos demais fungos dimórficos endêmicos por características únicas da fase parasitária (Cap. 64, Fig. 64-1). Entre os fatores de virulência presumidos que podem contribuir para a patogenicidade desse organismo, encontram-se a resistência dos conídios infecciosos à destruição fagocítica, a capacidade de estimular uma

resposta TH2 ineficiente (similar a *B. dermatitidis*), a produção de urease e proteinases extracelulares e a capacidade de mimetismo molecular (Tabela 58-1).

Resistência dos Conídios à Destruição Fagocítica

A fase saprofítica de *C. immitis* (e *C. posadasii*) consiste em hifas septadas que, quando maduras, produzem artroconídios em forma de barril, separados uns dos outros por células disjuntoras vazias (Cap. 57, Fig. 57-2B; Cap. 64, Figs. 64-1D e 64-7). Os artroconídios são muito hidrofóbicos e facilmente aerossolizados. Esses conídios são pequenos (3 a 5 μm × 2 a 4 μm) e, quando inalados, podem ser transportados profundamente para o interior no trato respiratório, com frequência até o nível alveolar. A parede externa do conídio é composta primariamente por proteína (50%), incluindo pequenos polipeptídeos ricos em cisteína conhecidos como **hidrofobinas**, devido ao seu distinto perfil hidropático. O restante da composição da parede inclui lipídios (25%), carboidratos (12%) e um pigmento não identificado. Acredita-se que essa camada externa hidrofóbica tenha propriedades antifagocíticas, uma vez que sua remoção resultou no aumento da fagocitose de artroconídios de *C. immitis* por neutrófilos polimorfonucleares (PMNs, do inglês, *polymorphonuclear neutrophils*) humanos em comparação à fagocitose de artroconídios intactos. É importante notar que tanto os conídios intactos quanto aqueles com a parede celular externa removida não foram eficientemente destruídos após a ingestão por PMNs. Aparentemente, os artroconídios infecciosos de *C. immitis* apresentam barreiras ativas e passivas contra o ataque pelas defesas inatas do hospedeiro nos pulmões.

Estímulo de uma Resposta Imune TH2 Ineficiente por Coccidioides immitis

Sabe-se que todos os indivíduos com infecções por *Coccidioides* spp. produzem anticorpos contra uma glicoproteína predominante (SOWgp) de uma camada externa da parede das células parasitárias (esférulas). Ambas as vias da resposta imune por células T auxiliares, TH1 e TH2, são estimuladas por SOWgp. Sabe-se que a ativação da via TH1 está associada à resolução espontânea da infecção por *Coccidioides* spp. em camundongos. Além disso, foi demonstrado que camundongos suscetíveis à infecção por *C. immitis* demonstraram uma resposta TH2 à infecção, enquanto linhagens resistentes apresentaram uma maior resposta TH1. Assim, semelhantemente ao que foi descrito para *B. dermatitidis*, as respostas TH2 contra SOWgp podem não contribuir para a eliminação de *C. immitis*, podendo até mesmo ser desvantajosas no controle da infecção. As formas mais graves de coccidioidomicose são acompanhadas por depressão da imunidade celular e altos níveis plasmáticos de anticorpos fixadores de complemento específicos para *C. immitis*, compatível com uma resposta predominantemente TH2. Apesar de não se saber muito a respeito do perfil de citocinas humanas durante infecções por *Coccidioides* spp., é razoável especular que antígenos imunodominantes de *C. immitis* que provocam um forte aumento de IL-10 e IL-4 possam direcionar a resposta imune para uma via TH2. Essa imunomodulação pode contribuir para o aumento da gravidade da infecção fúngica.

Produção de Urease

O nicho ambiental para a forma saprofítica de *C. immitis* é o solo alcalino do deserto. Tanto a fase saprofítica quanto a parasitária desse organismo demonstraram íons amônia e amônio quando cultivadas *in vitro*, resultando na alcalinização do meio de cultura. Os endósporos de *C. immitis* liberam muito mais íons amônio/amônia que as esférulas quando cultivadas em condições ácidas (pH 5,0). Endósporos recém-liberados demonstraram ser cercados por um halo alcalino produzido pelos íons amônio/amônia.

Os endósporos de *C. immitis* são rapidamente fagocitados por macrófagos alveolares, mas, uma vez ingeridos, são capazes de sobreviver intracelularmente. Foi demonstrado que endósporos intracelulares viáveis são cercados por um halo alcalino em sua superfície celular, sugerindo que a produção de íons amônio/amônia pode contribuir para a sobrevivência do patógeno dentro do fagossomo do macrófago ativado.

A capacidade de *C. immitis* de gerar um microambiente alcalino e responder à acidificação aumentando a quantidade de íons amônio/amônia por suas células parasitárias é uma característica que pode contribuir para a patogênese desse fungo. Embora os detalhes da geração de amônia e o modo como a alcalinidade da superfície celular afetam a função fagocítica não sejam bem compreendidos, foi proposto que a principal fonte de amônia produzida por *C. immitis* advenha da atividade da urease. Esta é uma metaloenzima que se localiza na fração citoplasmática de células microbianas e catalisa a hidrólise de ureia, formando amônia e carbamato. Na sequência, o carbamato é hidrolisado, formando outra molécula de amônia. A maior quantidade de urease detectada em *C. immitis* se encontra em esférulas na fase de formação de endósporos, o que se correlaciona com o estágio de desenvolvimento no qual as maiores quantidades de íons amônia/amônio são detectadas. Consideradas em conjunto, essas informações sugerem que a atividade da urease contribui para a patogenicidade de *C. immitis*.

Proteinases Extracelulares

Os patógenos fúngicos produzem uma série de proteinases ácidas, neutras e alcalinas que são ativas ao longo de uma extensa faixa de pH, exibindo ampla especificidade de substratos. Sugeriu-se que certas enzimas extracelulares secretadas por fungos desempenhem funções fundamentais no crescimento invasivo, o que pode levar à morte do hospedeiro infectado. As proteinases secretadas podem permitir a penetração de barreiras cutâneas e mucosas, a neutralização parcial de defesas ativas do hospedeiro, a transmigração de camadas endoteliais e a subsequente disseminação hematogênica, levando ao estabelecimento da infecção em vários locais anatômicos.

C. immitis, como um patógeno fúngico primário, é capaz de romper a barreira da mucosa respiratória, penetrar na corrente sanguínea e/ou no sistema linfático e se disseminar para outros órgãos. Ambas as formas do fungo, saprofítica (conídio) e parasitária, expressam diversas proteinases durante o crescimento celular. O conídio produz uma proteinase extracelular de 36 kDa capaz de quebrar o colágeno, a elastina e a hemoglobina humanos, bem como IgG e IgA. A clivagem de imunoglobulinas secretórias por patógenos fúngicos oportunistas foi correlacionada com a capacidade de estes organismos colonizarem a mucosa do hospedeiro. Acredita-se que uma proteinase alcalina de 66 kDa capaz de digerir proteínas estruturais encontradas no tecido pulmonar seja secretada durante todo o curso da doença causada por C. immitis. Todos os pacientes com coccidioidomicose produzem anticorpos dirigidos contra essa enzima, e acredita-se que essa proteinase alcalina desempenhe uma importante função na colonização e invasão de tecidos do hospedeiro por esférulas e endósporos de C. immitis.

Mimetismo Molecular

A produção de moléculas por um micro-organismo patogênico que são estruturalmente antigênicas e funcionalmente semelhantes a moléculas do hospedeiro é denominada **mimetismo molecular**. Em alguns casos, a infecção pode resultar na geração de anticorpos que apresentam reação cruzada com tecidos do hospedeiro e produzem uma patologia do tipo autoimune. Foi demonstrado que fungos produzem moléculas semelhantes funcionalmente, mas nem sempre estruturalmente, a moléculas do hospedeiro ("mimetismo funcional"). Foram identificadas moléculas fúngicas que funcionam de maneira similar às integrinas, aos receptores de complemento e aos hormônios sexuais.

Uma proteína que se liga ao estrogênio foi isolada de frações citosólicas de *C. immitis*. Sabe-se que as concentrações fisiológicas de progesterona e 17-β-estradiol estimulam a taxa de crescimento de *C. immitis* e a liberação de endósporos. Essas informações coincidem com o reconhecimento de que a gravidez, especialmente durante o terceiro trimestre, apresenta um grande fator de risco para coccidioidomicose disseminada.

Histoplasma capsulatum

Sabe-se que a maioria das pessoas infectadas por *H. capsulatum* se recupera sem complicações e sem terapia antifúngica específica (Cap. 64). Todavia, a reativação da histoplasmose pulmonar e extrapulmonar em pacientes imunocomprometidos que originalmente apresentaram disseminação progressiva do fungo está documentada ao longo da literatura. Inalação de conídios a partir do ambiente, junto com a falha em eliminar o fungo por mecanismos mucociliares, gera a oportunidade de que os conídios inalados se transformem em leveduras que são ingeridas por fagócitos mononucleares. *H. capsulatum* é encontrado quase exclusivamente dentro das células do hospedeiro, onde pode se replicar ou permanecer inativo.

Histoplasma capsulatum Reside nos Macrófagos do Hospedeiro

A conversão de conídios inalados de *H. capsulatum* em células leveduriformes é fundamental para a sobrevivência do patógeno dentro do hospedeiro e ocorre horas após a infecção. Embora teoricamente um único conídio possa ser suficiente para estabelecer uma infecção, em geral se considera que um inóculo muito grande de conídios seja necessário para estabelecer doença disseminada em uma pessoa saudável e imunocompetente. Os fagócitos mobilizados para o local de infecção são efetivos na destruição dos conídios ingeridos, o que não ocorre tão bem em relação às leveduras.

Sabe-se que o organismo produz substâncias quimiotáxicas para os macrófagos alveolares, o que facilita a internalização pelos fagócitos do hospedeiro; entretanto, os detalhes da forma pela qual o patógeno resiste aos esforços destrutivos dos macrófagos ainda não estão claros. Sugeriu-se que certos esfingolipídios contendo fosfoinositol na parede celular possam interferir na resposta oxidativa do macrófago contra o patógeno fúngico. O fato de os macrófagos serem as principais células do hospedeiro nas quais *H. capsulatum* reside durante a fase de levedura leva a acreditar que seja uma importante estratégia de sobrevivência e disseminação do patógeno. Existem diversos fatores, considerados importantes para a capacidade do fungo persistir dentro do fagolisossoma do macrófago, que contribuem significativamente para a patogenicidade do organismo: modulação de pH, captação de ferro e cálcio e alteração da parede celular da levedura.

Modulação do pH do Fagolisossoma

As células leveduriformes de *H. capsulatum* são rapidamente ingeridas por macrófagos alveolares. Após a ingestão, o pH do fagolisossoma contendo uma ou mais células de levedura se eleva (6,0 a 6,5) acima do valor ideal para muitas das enzimas do lisossomo. Essa modulação de pH não só interfere na atividade enzimática, mas também influencia no processamento de antígenos dentro da célula e contribui para a sobrevivência do patógeno *in vivo*. Apesar de ser tentador relacionar a urease de *H. capsulatum* com esse processo, ela não é considerada um fator primordial, uma vez que o pH só se eleva em fagossomos que contêm a célula de levedura. Se a urease fúngica estivesse envolvida, seria esperado que íons amônia/amônio produzidos se difundissem para fora do fagossoma e elevassem também o pH no restante da célula do hospedeiro.

Captação de Ferro e Cálcio

O ferro é um importante cofator de diversas metaloenzimas diferentes e proteínas contendo o grupo heme. Os microorganismos captam ferro do ambiente produzindo sideróforos, que provocam a quelação do ferro férrico e formam complexos solúveis de ferro. *H. capsulatum* capta ferro através de um sideróforo hidroxâmico, embora o papel deste sideróforo na sobrevivência do fungo dentro do macrófago seja desconhecido. A capacidade do fungo de modular o pH no interior do fagolisossoma entre 6,0 e 6,5 é fundamental na captação de ferro pelas leveduras. Um pH superior a 6,5 torna o ferro inacessível ao *H. capsulatum*.

Da mesma maneira que ocorre com o ferro, as leveduras dentro do fagolisossoma devem apresentar um eficiente mecanismo para a ligação e o transporte de Ca²⁺. As células leveduriformes, mas não as filamentosas, liberam grandes quantidades de uma proteína ligadora de cálcio, CBP1 (do inglês, *calcium-binding proteín*), para o microambiente que as rodeia. Foi sugerido que a CBP1 seja importante na aquisição de cálcio durante o parasitismo intracelular. A expressão de CBP1 específica da fase de levedura pode fornecer ao *H. capsulatum* outro importante mecanismo adaptativo para sua sobrevivência dentro do fagolisossoma do macrófago.

Alteração da Composição da Parede Celular da Levedura

De modo semelhante ao B. dermatitidis, a maior parte das cepas de H. capsulatum apresenta a 1,3- α -glucana em sua parede celular. Demonstrou-se que mutantes espontâneos de H. capsulatum que perderam o componente 1,3- α -glucana infectam e persistem no interior dos macrófagos aparentemente sem lesar a célula do hospedeiro. Em contraste, cepas selvagens de leveduras com 1,3- α -glucana podem infectar e sobreviver dentro dos macrófagos, mas também podem proliferar-se dentro do fagolisossoma e por fim destruir o fagócito, liberando leveduras que passam a infectar novos macrófagos. Portanto, parece que microambientes específicos encontrados dentro de células do hospedeiro podem influenciar a seleção de variantes que apresentam o potencial para a persistência de longo prazo dentro do hospedeiro, bem como daqueles que produzem um processo proliferativo mais rápido.

Paracoccidioides brasiliensis

A infecção por *P. brasiliensis* começa com a inalação pulmonar de conídios, seguida da disseminação hematogênica ou linfática do fungo para praticamente todas as partes do corpo (Cap. 64). Uma característica peculiar da paracoccidioidomicose, em comparação com outras micoses sistêmicas, é o fato de que as infecções pulmonares primárias, que subsequentemente se disseminam, manifestam-se com muita frequência como lesões de mucosa na boca, no nariz e, ocasionalmente, no trato gastrointestinal.

A parede da levedura de P. brasiliensis é rica em glucanas solúveis em meio alcalino, como a 1,3- α -glucana. Como ocorre com muitos outros patógenos fúngicos dimórficos endêmicos, acredita-se que a presença de 1,3- α -glucana na camada mais externa da parede celular da levedura seja essencial para a sobrevivência do fungo $in\ vivo$. Aparentemente, os macrófagos são elementos fundamentais para a resposta inata contra a infecção por P. brasiliensis, sendo capazes de conter a infecção deste organismo, mas geralmente não eliminam as leveduras. Apesar de uma resolução clínica inicial da infecção, lesões residuais contendo leveduras viáveis podem se reativar até 40 anos depois, causando recorrência e sequelas graves. As características de P. brasiliensis consideradas importantes na patogênese da infecção incluem a resposta a fatores hormonais, a expressão de 1,3- α -glucana e as respostas imunes contra um antígeno imunodominante, gp43.

Influências Hormonais na Infecção

Embora a reatividade do teste cutâneo para a paracoccidioidina seja comparável entre homens e mulheres que residem em áreas endêmicas da paracoccidioidomicose, a relação entre homens e mulheres para a doença sintomática é de 78:1. A infecção subclínica parece ocorrer com a mesma frequência entre os dois sexos; entretanto, a progressão para a doença disseminada clinicamente evidente é muito mais frequente em homens. Essa observação levou à hipótese de que fatores hormonais desempenhem um importante papel na patogênese da paracoccidioidomicose.

Em contraste com *C. immitis*, no qual o estrogênio estimula o crescimento fúngico e a formação de endósporos, a transição de conídios para a forma de levedura de *P. brasiliensis* é inibida pelo estrogênio. Isso resulta na rápida eliminação da infecção em mulheres, enquanto em homens ocorre a progressão da infecção. Uma explicação alternativa seria a de que os hormônios sexuais masculinos apresentam um efeito imunoinibitório que facilita o estabelecimento da infecção. Essa ainda é uma área em investigação. De qualquer maneira, os eventos iniciais da interação fungo–hospedeiro após a infecção natural parecem ser modulados pelos hormônios, sendo, portanto, significativamente diferentes em homens e mulheres. Tais diferenças poderiam ser responsáveis pela suscetibilidade acentuadamente superior entre homens para a paracoccidioidomicose.

O Papel das Glucanas da Parede Celular na Patogênese de Paracoccidioides brasiliensis

A parede celular de P. brasiliensis contém quatro polissacarídeos principais: galactomanana, 1,3- α -glucana, 1,3- β -glucana e quitina. O componente 1,3- α -glucana só é expresso na forma de levedura do organismo, e sua expressão se correlaciona com sua virulência. Cepas mutantes de P. brasiliensis desprovidas dessa glucana não são virulentas, sendo muito mais suscetíveis à digestão por neutrófilos.

A fração 1,3- β -glucana da parede celular age como importante imunomodulador e, quando exposta na parede celular do fungo, provoca uma intensa resposta inflamatória. As β -glucanas são descobertas quando os níveis de 1,3- α -glucana se reduzem, o que levou à hipótese de que a proporção entre 1,3- α -glucana e 1,3- β -glucana na parede celular de *P. brasiliensis* possa ser mais importante na patogênese que cada componente polissacarídico isoladamente. É importante perceber que a relação entre a razão de α -/ β glucanas na parede celular de *P. brasiliensis* e o tipo de resposta imune é semelhante àquela observada tanto na histoplasmose quanto na blastomicose. Em cada caso, um grande conteúdo de 1,3- α -glucana nas leveduras está relacionado com uma virulência aumentada, e níveis ausentes ou diminuídos deste componente

se referem a uma virulência reduzida. A alteração na composição da parede celular de leveduras dos três patógenos dimórficos também é relativa à capacidade deles de serem sequestrados dentro das células e dos tecidos e de persistirem como elementos viáveis durante anos após a infecção.

Resposta ao Antígeno Imunodominante, gp43

A fase de levedura de *P. brasiliensis* secreta uma glicoproteína imunodominante de 43 kDa (gp43), que é ao mesmo tempo um importante antígeno sorodiagnóstico e um presumido fator de virulência. O antígeno gp43 é um receptor de laminina-1 e pode ser responsável pela adesão das células de leveduras à membrana basal do hospedeiro. Esse antígeno também se liga a macrófagos e provoca tanto uma forte resposta humoral quanto uma resposta de hipersensibilidade tipo tardia (HTT) em humanos.

A defesa imunológica contra a infecção por *P. brasiliensis* depende da imunidade celular e não da humoral. Uma resposta da HTT debilitada se correlaciona com um aumento da gravidade da doença. Camundongos imunizados com gp43 desenvolvem respostas imunes tipos TH1 e TH2, enquanto gp43 e um segundo antígeno, gp70, são grandes contribuintes para uma resposta humoral em humanos. É possível que a reatividade imune de pacientes contra gp43 e gp70 seja dominada pela via TH2 com uma resposta inadequada de células T. Caso a imunidade celular do paciente contra *P. brasiliensis* esteja de fato comprometida por essa hiporresponsividade de células T, este poderia ser um mecanismo (como visto na histoplasmose e coccidioidomicose) subjacente à imunopatogênese da paracoccidioidomicose.

Patógenos Oportunistas

O estado do hospedeiro é de fundamental importância na determinação da patogenicidade de patógenos fúngicos oportunistas, como *Candida* spp., *C. neoformans* e *Aspergillus* spp. Na maioria dos casos, esses organismos podem existir como colonizadores benignos ou saprófitas ambientais, só causando infecções sérias quando há uma diminuição das defesas do hospedeiro. Existem fatores associados a esses organismos, que podem ser considerados "fatores de virulência", por contribuírem para o processo patológico, e, em alguns casos, que podem explicar as diferenças entre as patogenicidades dos diversos organismos.

Espécies de Candida

Candida spp. são os mais comuns dos patógenos fúngicos oportunistas (Cap. 65). Atualmente, está bem estabelecido o fato de que Candida spp. colonizam a mucosa gastrointestinal e atingem a corrente sanguínea por translocação gastrointestinal, ou através de cateteres vasculares contaminados, interagem com defesas do hospedeiro e deixam o compartimento intravascular invadindo tecidos profundos de órgãos-alvo como fígado, baço, rins, coração e cérebro. Acredita-se que as características do micro-organismo que contribuem para sua patogenicidade incluam sua capacidade de aderir a tecidos, o dimorfismo entre as formas de levedura e hifa, a hidrofobicidade de sua superfície celular, a secreção de proteinases e as mudanças fenotípicas (Tabela 58-1).

A capacidade de aderência de *Candida* spp. a diversos tecidos e superfícies inanimadas é considerada importante nos estágios iniciais da infecção. A capacidade de aderência de várias espécies de *Candida* está diretamente relacionada com o seu grau de virulência em diversos modelos experimentais. A aderência é adquirida por uma combinação de mecanismos específicos (interação ligante-receptor) e inespecíficos (forças eletrostáticas e de van der Waals).

Há muito tempo se considera que a capacidade de sofrer transformação de leveduras para hifa apresente alguma importância na patogenicidade. A maioria das espécies de *Candida* é capaz de realizar essa transformação, que demonstrou ser regulada tanto por pH quanto por temperatura. A transformação de levedura em hifa é uma resposta de *Candida* spp. a alterações no microambiente. As hifas de *C. albicans* exibem **tigmotropismo** (um sentido de tato), que lhes permite crescer ao longo de depressões ou através de poros e pode auxiliar na infiltração de superfícies epiteliais.

A composição da superfície celular de *Candida* spp. pode afetar tanto a hidrofobicidade da célula quanto a resposta imune contra ela. O tipo e o grau de glicosilação das manoproteínas na superfície celular podem afetar a hidrofobicidade da célula e, portanto, a adesão a células epiteliais. Os tubos germinativos de *C. albicans* são hidrofóbicos, enquanto os brotos ou blastoconídios são hidrofílicos. As diversas glicoproteínas de *C. albicans* também suprimem a resposta imune contra o organismo por meio de mecanismos pouco compreendidos.

Conforme discutido em relação aos patógenos primários, a capacidade de *Candida* spp. secretar diversas enzimas pode também influenciar a patogenicidade do organismo. Diversas espécies de *Candida* secretam aspartil proteinases que hidrolisam as proteínas do hospedeiro envolvidas em defesas contra a infecção, permitindo que as leveduras rompam barreiras de tecido conjuntivo. Da mesma maneira, a maioria das espécies de *Candida* que causam infecção em humanos produz fosfolipases. Tais enzimas lesam as células do hospedeiro, sendo consideradas importantes na invasão tecidual.

A capacidade de *Candida* spp. transformarem-se de maneira rápida de um morfotipo a outro foi denominada **mudanças fenotípicas**. Apesar de originalmente aplicada a alterações na morfologia macroscópica de colônias, já se sabe que os diferentes fenótipos observados em meios de cultura sólidos representam diferenças na formação de brotamentos e hifas, expressão de glicoproteínas de parede celular, secreção de enzimas proteolíticas, suscetibilidade à lesão oxidativa por neutrófilos e suscetibilidade e resistência a antifúngicos. Mudanças fenotípicas contribuem para a virulência de *Candida* spp. por permitir que o organismo se adapte rapidamente à alteração em seu microambiente, facilitando sua capacidade de sobreviver, invadir tecidos e escapar das defesas do hospedeiro.

Cryptococcus neoformans

C. neoformans. é uma levedura encapsulada com distribuição universal, que causa infecção em humanos. Embora esse organismo possa infectar hospedeiros aparentemente normais, ele causa doença com mais frequência e gravidade em hospedeiros imunocomprometidos. Ao se analisar a patogênese da criptococose, é útil considerar tanto as defesas do hospedeiro quanto os fatores de virulência presumidos.

Existem três linhas de defesa principais contra a infecção por *C. neoformans*: macrófagos alveolares, células fagocíticas inflamatórias e resposta de células T e B. O desenvolvimento da criptococose depende amplamente da competência das defesas celulares do hospedeiro e do número e da virulência das leveduras inaladas.

A primeira linha de defesa são os macrófagos alveolares. Estas células são capazes de ingerir as células de leveduras, mas apresentam uma capacidade limitada de destruí-las. Os macrófagos que contêm as leveduras ingeridas produzem várias citocinas para o recrutamento de neutrófilos, monócitos, células NK e células da corrente sanguínea para os pulmões. Eles também agem como células apresentadoras de antígenos e induzem à diferenciação e proliferação de linfócitos T e B que são específicos para *C. neoformans*. As células recrutadas são eficientes na destruição de *C. neoformans* por mecanismos intra e extracelulares (tanto oxidativos quanto não oxidativos).

A resposta de anticorpos contra este organismo não é protetora, mas serve para opsonizar as células leveduriformes, aumentando a citotoxicidade mediada por células. Dessa maneira, o sistema complemento aumenta a eficácia da resposta de anticorpos e fornece opsoninas e fatores quimiotáxicos para a fagocitose e o recrutamento de células inflamatórias.

Uma resposta efetiva do hospedeiro contra *C. neoformans* consiste em uma interação complexa de fatores imunes celulares e humorais. Quando esses fatores são prejudicados, a infecção se dissemina, geralmente por migração de macrófagos contendo células de levedura viáveis, a partir do pulmão para os linfáticos e da corrente sanguínea até o cérebro.

Os principais fatores inerentes ao *C. neoformans* que permitem que a levedura invada as defesas do hospedeiro e estabeleça a infecção incluem a capacidade de crescer a 37°C, produzir uma espessa cápsula de polissacarídeos, sintetizar melanina e apresentar um fenótipo do tipo MATalfa (Tabela 58-1).

A cápsula de *C. neoformans* protege a célula da fagocitose e de citocinas induzidas pelo processo fagocítico e suprime tanto a imunidade celular quanto a humoral. A cápsula pode bloquear fisicamente o efeito opsonizante do complemento e anticorpos anticriptococos, e a alteração negativa que ela confere produz uma repulsão eletrostática entre as células leveduriformes e as células do hospedeiro. Além disso, o material capsular interfere na apresentação de antígenos e limita a produção de óxido nítrico (tóxico para as células criptococócicas) pelas células do hospedeiro.

O fungo produz melanina por meio de uma enzima fenoloxidase ligada à membrana e a deposita na parede celular. Acredita-se que a melanina aprimore a integridade da parede celular e aumente a carga total negativa da célula, protegendo-a ainda mais contra a fagocitose. Estima-se que a melanização seja responsável pelo neurotropismo de *C. neoformans* e possa proteger a célula de estresse oxidativo, temperaturas extremas, redução de ferro e peptídeos microbicidas.

O fenótipo MATalfa está associado à presença do gene *STE12alfa*, que demonstrou ser um modulador da expressão de vários outros genes cujas funções são importantes para a produção da cápsula e melanina.

Espécies de Aspergillus

A aspergilose é a mais comum infecção invasiva por fungos filamentosos em todo o mundo. *Aspergillus* spp. são saprófitos ubíquos na natureza, podendo ser encontrados no solo, em vasos de plantas, vegetação em decomposição, pimenta e áreas de construção. *Aspergillus* spp. podem causar doença em humanos pela colonização de vias aéreas com subsequentes reações alérgicas, pela colonização de cavidade preexistente (aspergiloma) ou por invasão tecidual.

A via primária de infecção na aspergilose é a inalação de conídios por aerossol (2,5 a 3 μm) que se depositam nos pulmões, nasofaringe ou seios paranasais. Nos pulmões, os macrófagos alveolares e neutrófilos desempenham papel fundamental na defesa do hospedeiro contra *Aspergillus* spp. Os macrófagos ingerem e destroem os conídios, enquanto os neutrófilos aderem e destroem as hifas que crescem após a germinação dos conídios. As hifas que não são destruídas podem invadir o tecido pulmonar e a vasculatura, levando a trombose e necrose tecidual local, bem como à disseminação hematogênica para outros órgãos-alvo (cérebro).

Aspergillus spp. secretam muitos produtos metabólicos, como gliotoxinas e várias enzimas, incluindo elastase, fosfolipases, diversas proteases e catalase, que podem ter uma importante função na virulência. A gliotoxina inibe a fagocitose por macrófagos e a ativação e proliferação de células T; entretanto, não se sabe se são produzidas quantidades clinicamente significativas de gliotoxinas na doença humana.

Conídios de *Aspergillus fumigatus* se ligam ao fibrinogênio humano, bem como à laminina na membrana basal alveolar. Acredita-se que este seja um importante primeiro passo que permite ao fungo se estabelecer em tecidos do hospedeiro. A ligação ao fibrinogênio e laminina poderia facilitar a aderência de conídios, enquanto a secreção de elastases e proteases ácidas poderia auxiliar na invasão de células do hospedeiro pelas hifas.

A aspergilose invasiva está altamente associada à neutropenia e à deficiência na função neutrofílica. Os conídios de *Aspergillus* resistem à destruição por neutrófilos, mas os conídios em germinação e as hifas são rapidamente destruídos. Na doença granulomatosa crônica, os neutrófilos são incapazes de gerar a explosão respiratória para destruir microorganismos produtores de catalase. *Aspergillus* spp. produzem catalase, uma enzima que quebra o peróxido de hidrogênio. A forte associação entre aspergilose e doença granulomatosa crônica ressalta a importância da função neutrofílica na defesa

do hospedeiro contra a aspergilose e fornece evidências indiretas para a catalase como um fator de virulência. É geralmente aceito que o risco aumentado de aspergilose em indivíduos que recebem altas doses de corticosteroides seja devido à deficiência na função de macrófagos e, talvez, de células T. Além disso, foi demonstrado que os corticosteroides estimulam o crescimento de *Aspergillus* spp. em meios de cultura. Não se sabe se *Aspergillus* spp. apresentam proteínas específicas de ligação a esteroides análogas àquelas encontradas em outros fungos.

Referências Bibliográficas

Cole GT. Fungal pathogenesis. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. New York: Churchill Livingstone; 2003. Cramer Jr RA, Perfect JR. Recent advances in understanding human opportunistic fungal pathogenesis mechanisms. In: Annaisie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. ed 2 New York: Churchill Livingstone; 2009.

Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ. Candida. In: Annaisie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology,*. ed 2 New York: Churchill Livingstone; 2009.

Heitman J, Filler SG, Edwards Jr JE, et al. *Molecular principles of fungal pathogenesis*. Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2006.

Nemecek JC, Wuthrich M, Klein BS. Global control of dimorphism and virulence in fungi. Science. 2006;312:583–588.

CAPÍTULO 59

O Papel dos Fungos na Doença

Um resumo dos fungos (leveduras e fungos filamentosos) mais comumente associados a doença humana é apresentado neste capítulo. As doenças micóticas humanas se desenvolvem como processos patogênicos em um ou mais sistemas de órgãos. Os sistemas afetados podem ser tanto as camadas mais externas da pele quanto as superficiais ou profundas, como o coração, o sistema nervoso central ou trato gastrointestinal. Embora um único fungo possa estar mais comumente associado a infecção de um único sistema orgânico (p.ex., *Cryptococcus neoformans* em sistema nervoso central), mais frequentemente vários organismos distintos podem produzir uma síndrome diferente. Como o manejo de uma determinada infecção pode diferir de acordo com o agente etiológico, então é útil, para orientar o diagnóstico subsequente e os esforços terapêuticos, desenvolver um diagnóstico diferencial que inclua os mais prováveis patógenos fúngicos.

Visto que o desenvolvimento de uma infecção fúngica depende de fatores que, com frequência, são mais importantes que o potencial de virulência do organismo infectante, é preciso considerar numerosos componentes, tais como o estado imune do hospedeiro, a oportunidade para a interação entre o fungo e o hospedeiro (p.ex., o fungo é **endógeno** ou **exógeno** ao paciente?) e a carga infectante (p.ex., no caso de um fungo dimórfico endêmico) para a determinação da possibilidade de uma infecção fúngica, do significado dos dados microbiológicos (p.ex., resultados da cultura) e da necessidade de tratar e com qual agente. Muitas vezes, as infecções fúngicas ocorrem em pacientes gravemente debilitados, e não é possível resumir aqui as interações complexas que, em última análise, levam ao estabelecimento da infecção e da doença em cada indivíduo. Como alternativa, este capítulo fornece uma lista bastante ampla dos vários fungos comumente associados a manifestações clínicas específicas e/ou infecções em locais específicos do corpo (Tabela 59-1). Essas informações visam à utilização conjunta com aquelas do Capítulo 60, Tabela 60-1, como um auxílio para estabelecer um diagnóstico diferencial e para a seleção das amostras clínicas mais prováveis que ajudarão a definir o diagnóstico etiológico específico. Outros fatores que podem ser importantes na determinação da frequência relativa com que fungos específicos causam doença (p.ex., idade, comorbidades, imunidade do hospedeiro, epidemiologia das micoses e fatores de risco) são abordados nos capítulos individuais deste livro ou nos textos de doenças infecciosas mais abrangentes citados neste e em outros capítulos.



Resumo dos Fungos Associados à Doença Humana

Sistema Afetado	Patógenos
Infecções do T	rato Aéreo Superior
Orofaringe	Candida spp., Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis, Talaromyces (Penicillium) marneffei, Geotrichum candidum
Sinusite	Aspergillus spp., Mucormicetos, Fusarium spp., fungos filamentosos dematiáceos (p.ex., Alternaria, Bipolaris, Exophiala spp.)
Laringe	Histoplasma capsulatum, Sporothrix schenckii, Blastomyces dermatitidis
Esôfago	Candida spp.
Infecções do O	uvido
Otite externa	Aspergillus niger, Candida spp.
Infecções Ocul	ares
Endoftalmite	Candida spp., Aspergillus spp., Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Fusarium spp., Histoplasma capsulatum, Cryptococcus neoformans
Ceratite	Candida spp., Fusarium spp., fungos filamentosos dematiáceos, Scedosporium spp., Purpureocillium lilacinum
Sino-orbital	Mucormicetos, Aspergillus spp., fungos filamentosos dematiáceos
Dacriocistite e canaliculite	Candida albicans, Aspergillus niger
Infecções Pleu	ropulmonares e Brônquicas
Bronquite	Aspergillus spp., Cryptococcus neoformans
Pneumonia	Aspergillus spp., Mucormicetos, Fusarium spp., Scedosporium apiospermum, Trichosporon spp., fungos filamentosos dematiáceos, Cryptococcus neoformans/gattii, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Paracoccidioides brasiliensis, Talaromyces (Penicillium) marneffei, Pneumocystis jirovecii, Candida spp. (raras)
Bola fúngica	Aspergillus spp., Mucormicetos, Scedosporium apiospermum, Fusarium spp., Candida spp.
Empiema	Aspergillus spp., Mucormicetos, Scedosporium apiospermum, Fusarium spp., Candida spp., Coccidioides immitis/posadasii
Infecções do T	rato Genitourinário
Vulvovaginal	Candida spp., Saccharomyces cerevisiae
Cistite e pielonefrite	Candida spp. (mais comuns), Cryptococcus neoformans, Aspergillus spp., Coccidioides immitis/posadasii, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis (raro), Trichosporon spp. (raras), Blastoschizomyces capitatus (raro), Rhodotorula spp. (raras)
Epididimite e orquite	Candida spp., Cryptococcus neoformans, Aspergillus spp., Coccidioides immitis/posadasii, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis (todas raros)
Prostatite	Candida spp. (comum), Cryptococcus neoformans (comum), Blastomyces dermatitidis (comum), Histoplasma capsulatum, Aspergillus spp. (raras), Coccidioides immitis/posadasii (raras)
Infecções Intra	-abdominais
Peritonite	Candida spp., Rhodotorula spp., Trichosporon spp., Aspergillus spp. (raras)
Abscessos viscerais	Candida spp., Trichosporon spp., Blastoschizomyces capitatus
Infecções Card	iovasculares
Endocardite	Candida spp., Trichosporon spp., Rhodotorula spp., Aspergillus spp., outros hifomicetos hialinos (p.ex., Fusarium, Sarocladium [Acremonium]), fungos filamentosos dematiáceos
Pericardite	Candida spp., Aspergillus spp., Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis/posadasii
Sistema Nervo	so Central

Meningite	Candida spp., Cryptococcus neoformans/gattii, Aspergillus spp., Mucormicetos (raro), Coccidioides immitis/posadasii, Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis (raro), Rhodotorula spp., Blastoschizomyces capitatus, Talaromyces (Penicillium) marneffei		
Abscessos cerebrais	Candida spp., Cryptococcus neoformans/gattii, Aspergillus spp., Mucormicetos, Scedosporium apiospermum, Trichosporon spp., Trichoderma spp., fungos filamentosos dematiáceos (especialmente Cladophialophora bantiana e Bipolaris hawaiiensis), fungos dimórficos endêmicos (raros)		
Infecções da Pe	ele e Tecidos Moles		
Superficiais e cutâneas	Dermatófitos, Candida spp., Neoscytalidium spp., Scopulariopsis spp., Aspergillus spp., Malassezia spp., Purpureocillium lilacinum		
Subcutâneas	Fungos filamentosos dematiáceos, Fusarium spp., Acremonium spp., Scedosporium apiospermum, Sporothrix schenckii, Basidiobolus sp., Conidiobolus sp.		
Feridas (cirúrgicas ou traumáticas)	Candida spp., Mucormicetos, Aspergillus spp., Fusarium spp., Trichosporon spp., Rhodotorula spp., Scedosporium prolificans		
Nódulos cutâneos (hematógenos)			
Infecções Ósse	as e Articulares		
Osteomielite	Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Candida spp., Cryptococcus neoformans, Aspergillus spp., Mucormicetos, fungos filamentosos dematiáceos (micetoma), outros hifomicetos hialinos (p.ex., Scedosporium spp., Trichosporon), Histoplasma capsulatum var. duboisii		
Artrite	Coccidioides immitis/posadasii, Blastomyces dermatitidis, Cryptococcus neoformans, Candida spp., Aspergillus spp., fungos filamentosos dematiáceos (micetoma; raro), Histoplasma capsulatum (raro), Paracoccidioides brasiliensis (raro), Sporothrix schenckii (raro)		
Outras Infecçõ	es		
Articulações protéticas	Candida spp., todos os demais muito raros		
Disseminação hematogênica Candida spp., Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii, Cryptococcus neoformans/gattii, Paracoccidioides brasiliensis, Sporothrix schenckii, Aspergillus spp., Fusarium spp., Trichosporon spp., Malassezia spp., Blastoschizomyces capitatus, (Penicillium) marneffei, outros (p.ex., Rhodotorula, Acremonium, Saccharomyces spp. em pacientes neutro transplantados)			

Referências Bibliográficas

Sistema Afetado Patógenos

Anaisse EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. Clinical mycology. ed 2. New York: Churchill Livingstone; 2009.

Guarner J, Brandt ME. Histopathologic diagnosis of fungal infection in the 21st century. Clin Microbiol Rev. 2011;24:247–280.

Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern for resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol*. 2004;42:4419–4431.

Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive mycoses in North America. Crit Rev Microbiol. 2010;36:1-53.

Versalovic J, et al. Manual of clinical microbiology. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Diagnóstico Laboratorial das Doenças Fúngicas

O espectro das doenças fúngicas abrange desde infecções cutâneas superficiais e mucosas, que podem se manifestar por uma irritação local, a processos altamente invasivos associados a patógenos sistêmicos clássicos e oportunistas. Infecções graves têm sido reportadas com uma variedade cada vez maior de patógenos, incluindo os fungos patogênicos bem conhecidos como *Candida, Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum* e *Aspergillus*, assim como fungos filamentosos hialinos e dematiáceos menos conhecidos (Cap. 57, Tabelas 57-1 e 57-2). A micologia médica moderna se tornou o estudo das micoses causadas por uma grande variedade de fungos distintos taxonomicamente.

As micoses oportunistas apresentam um desafio diagnóstico igualmente significativo aos clínicos e micologistas devido à complexidade da população de pacientes em risco e à disposição cada vez maior de fungos que podem infectar esses indivíduos. O diagnóstico e tratamento bem-sucedidos das infecções fúngicas em pacientes imunocomprometidos são altamente dependentes da abordagem multidisciplinar da equipe, que envolve o clínico, médico patologista e o micologista.

Este capítulo fornece uma descrição geral dos princípios da coleta de amostras e do processamento necessário ao diagnóstico da maioria das infecções fúngicas. Também é proporcionada uma visão geral da microscopia direta, da cultura e dos testes diagnósticos imunológicos e moleculares. Os detalhes específicos destes e de outros procedimentos utilizados no diagnóstico das infecções fúngicas podem ser encontrados em vários textos de referência listados nas Referências Bibliográficas.

Diagnóstico Clínico das Infecções Fúngicas

O rápido diagnóstico das micoses invasivas requer um alto índice de suspeita clínica e uma revisão dos fatores de risco específicos que possam predispor um paciente a tais infecções. A suspeita clínica por meio do histórico e exame físico — incluindo uma busca por lesões cutâneas e mucosas, inspeção de todos os dispositivos implantados (cateteres etc.), um exame oftalmológico cuidadoso, exames diagnósticos de imagem e a procura de amostras apropriadas ao diagnóstico laboratorial — é uma etapa essencial a ser considerada para aperfeiçoar o diagnóstico e o tratamento das infecções fúngicas. Infelizmente, ainda que fungos específicos possam estar associados a situações de casos "clássicos", como onicomicose e lesões cutâneas da extremidade inferior devido a *Fusarium* em pacientes com neutropenia, ou infecção sinusal decorrente de *Rhizopus* em pacientes diabéticos com cetoacidose, os sinais e sintomas clínicos não são específicos às infecções fúngicas e, muitas vezes, não são úteis na distinção entre infecções bacterianas e fúngicas em pacientes de risco a ambos os tipos de infecção. Para que sejam oferecidos o melhor suporte clínico e tratamento, é cada vez mais importante não somente ter o diagnóstico de infecção fúngica, mas também identificar o agente etiológico da infecção. Assim, o diagnóstico das infecções depende de três abordagens laboratoriais básicas: (1) microbiológica; (2) imunológica; e (3) histopatológica (Quadro 60-1). Essas abordagens podem ser suplementadas por métodos moleculares e bioquímicos de detecção e identificação do organismo. A utilização de novos métodos na detecção de antígenos fúngicos e ácidos nucleicos oferece grande esperança ao diagnóstico rápido das infecções fúngicas.



Quadro 60-1 Métodos Laboratoriais para Diagnóstico da Doença Fúngica

Métodos Microbiológicos Convencionais

Microscopia direta (coloração de Gram, Giemsa e calcoflúor) Cultura Identificação

Métodos Histopatológicos

Teste de suscetibilidade

Coloração de rotina (H&E) Colorações especiais (GMS, PAS, Mucicarmim) Imunofluorescência direta Hibridização *in situ*

Métodos Imunológicos

Anticorpo Antígeno

Métodos Moleculares

Detecção direta (amplificação do ácido nucleico) Identificação Tipagem molecular de amostras

Métodos Bioquímicos

Metabólitos Componentes da parede celular Enzimas

GMS, Prata metenamina de Gomori; H&E; hematoxilina e eosina; PAS, ácido periódico de Schiff.

Diagnóstico Laboratorial Convencional

Coleta e Processamento de Amostras

Assim como em todos os tipos de processos infecciosos, o diagnóstico laboratorial da infecção fúngica é diretamente dependente da coleta adequada do material clínico apropriado e da entrega de amostras ao laboratório clínico. A seleção de amostras para cultura e exame microscópico é baseada não apenas nas informações obtidas de exames clínicos e radiológicos, mas também considerando o patógeno fúngico mais provável de causar o tipo específico de infecção (Tabela 60-1). As amostras devem ser coletadas assepticamente, ou após limpeza e descontaminação adequadas do local. Uma quantidade adequada de material clínico deve ser prontamente submetida ao exame micológico direto e cultivo do material em meios específicos. Infelizmente, muitas amostras enviadas ao laboratório são não representativas do local da infecção e em quantidade insuficiente, não sendo apropriadas para o diagnóstico. Tais amostras devem ser enviadas rapidamente, em um recipiente estéril, vedado, e acompanhadas de informações clínicas relevantes. O laboratório depende de informações clínicas na tomada de decisões como o melhor método de processamento da amostra para assegurar o isolamento do agente etiológico. A história clínica também é útil na interpretação dos resultados da cultura e outros testes laboratoriais, em especial quando se trata de amostras não estéreis, como escarro e pele. Além disso, as informações clínicas alertam os profissionais de laboratório de que pode se tratar de patógenos potencialmente perigosos, como *Coccidioides immitis/posadasii* ou *Histoplasma capsulatum*.

Locais Anatômicos, Coleta de Amostras e Procedimentos Diagnósticos para Infecções Fúngicas Selecionadas

Local de Infecção e Agente Etiológico	Amostras	Método de Coleta	Procedimento Diagnóstico
Sangue			
Candida, Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Fusarium, Aspergillus terreus, Talaromyces marneffei, Trichosporon	Sangue total	Punção venosa (estéril)	Cultura, cultura em meio líquido, lise- centrifugação, amplificação de ácidos nucleicos
	Soro	Punção venosa (estéril)	Antígeno (Candida, Cryptococcus e Histoplasma); amplificação de ácidos nucleicos; β- d-glicano
	Urina	Estéril	Antígeno (Histoplasma)
Medula Óssea			
Histoplasma capsulatum, Talaromyces marneffei	Aspirado	Estéril	Exame microscópico, cultura
	Soro	Punção venosa (estéril)	Sorologia (<i>Histoplasma</i>), antígeno, anticorpo
	Urina	Estéril	Antígeno (Histoplasma)
Sistema Nervoso Central			
Candida, Cryptococcus neoformans/gattii, Aspergillus, Scedosporium, fungos filamentosos dematiáceos, Mucormicetos (zigomicetos), Histoplasma, Coccidioides	Líquido cefalorraquidiano	Estéril	Exame microscópico, cultura, antígeno (<i>Cryptococcus</i>)
	Biópsia	Estéril, não estéril à histopatologia	Exame microscópico, cultura (não triturar o tecido)
	Soro	Estéril	Antígeno (Aspergillus, Cryptococcus e Histoplasma)
Osso e Articulação			
Candida, Fusarium, Aspergillus, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis/posadasii, Blastomyces dermatitidis, Talaromyces marneffei, Sporothrix schenckii	Aspirado	Estéril	Exame microscópico, cultura
	Biópsia	Estéril, não estéril à histopatologia	Exame microscópico, cultura (não triturar o tecido)
	Soro	Punção venosa	Sorologia, antígeno, anticorpo
Olho			
Fusarium, Candida, Cryptococcus neoformans, Aspergillus, Mucormicetos (zigomicetos)	Córnea	Raspado ou biópsia	Exame microscópico, cultura
	Humor vítreo	Aspirado estéril	Exame microscópico, cultura
Sistema Genitourinário			
Candida, Cryptococcus neoformans, Trichosporon, Rhodotorula	Urina	Estéril	Exame microscópico, cultura
Raramente: Histoplasma capsulatum, Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis/posadasii	Secreção ou fluxo vaginal, uretral, prostática	Swab	Exame microscópico, exame a fresco, calcoflúor/KOH, cultura
	Soro	Punção venosa	Sorologia (anticorpo)

Local de Infecção e Agente Etiológico	Amostras	Método de Coleta	Procedimento Diagnóstico
	Biópsia	Estéril, não estéril à histopatologia	Exame microscópico, cultura (não triturar o tecido)
Trato Respiratório			
Cryptococcus neoformans/gattii, Aspergillus, Fusarium, Mucormicetos (zigomicetos), Scedosporium apiospermum, fungos filamentosos dematiáceos, fungos dimórficos, Pneumocystis jirovecii (carinii)	Escarro	Induzido, sem conservantes	Exame microscópico, cultura, amplificação de ácidos nucleicos
	Lavado broncoalveolar	Sem conservantes	Exame microscópico, cultura, galactomanano (<i>Aspergillus</i>), β-d- glicano, amplificação do ácido nucleico
	Biópsia transbrônquica	Aspirado ou biópsia	Exame microscópico, cultura
	Biópsia pulmonar aberta	Estéril, não estéril à histopatologia	Exame microscópico, cultura (não triturar o tecido)
	Soro	Punção venosa	Sorologia, antígeno, anticorpo, amplificação de ácido nucleico, β-d- glicano
	Urina	Estéril	Antígeno (Histoplasma)
Pele e Membranas Mucosas			
Candida, Cryptococcus neoformans, Trichosporon, Aspergillus, Mucormicetos (zigomicetos), Fusarium, fungos filamentosos dematiáceos, fungos dimórficos, Sporothrix schenckii	Biópsia	Estéril, não estéril à histopatologia	Exame microscópico, cultura (não triturar o tecido)
	Mucosa	Swab	Exame microscópico, exame a fresco, calcoflúor/KOH, cultura
	Raspado de pele	Não estéril	Calcoflúor/KOH
	Soro	Punção venosa	Sorologia, antígeno, anticorpo, amplificação de ácido nucleico
	Urina	Estéril	Antígeno (Histoplasma)
Pontos Sistêmicos Múltiplos			
Candida, Cryptococcus neoformans/gattii, Trichosporon, fungos filamentosos hialinos, fungos filamentosos dematiáceos, fungos dimórficos	Sangue total	Punção venosa (estéril)	Cultura em caldo, lise-centrifugação, amplificação de ácidos nucleicos
	Soro	Punção venosa (estéril)	Sorologia, antígeno, anticorpo, amplificação de ácido nucleico, β-d- glicano
	Urina	Estéril	Antígeno (Histoplasma)
	Biópsia	Estéril, não estéril à histopatologia	Exame microscópico, cultura (não triturar o tecido)

KOH, Hidróxido de potássio.

O transporte das amostras ao laboratório deve ser imediato; entretanto, o processamento lento das mesmas para cultura de fungos pode não ser tão prejudicial como às amostras para exames bacteriológicos, virológicos ou parasitológicos. Em geral, se o processamento for retardado, as amostras para cultura fúngica podem ser armazenadas a 4°C por um curto período, sem a perda da viabilidade do organismo.

Similares às amostras do exame bacteriológico, algumas amostras são melhores que outras para o diagnóstico de infecções fúngicas (Tabela 60-1). Culturas de sangue e de outros líquidos corpóreos normalmente estéreis devem ser realizadas, se as indicações clínicas sugerirem um processo sistêmico, com envolvimento hematogênico ou de um ponto específico como o sistema nervoso central. As lesões cutâneas devem ser biopsiadas, e o material, enviado ao exame

histopatológico e à cultura. As infecções das mucosas oral e vaginal são, em geral, diagnosticadas pela apresentação clínica e pelo exame micológico direto das secreções ou raspado da mucosa, pois as culturas muitas vezes apresentam crescimento de fungos da microbiota normal ou até mesmo contaminantes. Igualmente, o diagnóstico das infecções fúngicas gastrointestinais é mais bem feito por biópsia e exame histopatológico em vez de cultura. As coletas de 24 horas de escarro e urina não são apropriadas ao exame micológico, pois, tipicamente, há um aumento excessivo de contaminantes bacterianos e fúngicos.

Exame Micológico Direto e Colorações

O exame micológico direto das secções teciduais e amostras clínicas é geralmente considerado o meio mais rápido e de baixo custo para o diagnóstico das infecções fúngicas. A observação microscópica das leveduras ou hifas nos tecidos pode ser efetuada em menos de 1 hora, enquanto os resultados da cultura podem demorar dias ou até mesmo semanas. Em alguns casos, o fungo pode não ser apenas detectado, mas identificado por microscopia devido à sua morfologia distinta. Especificamente, a detecção de ascósporos característicos, células leveduriformes ou esférulas pode fornecer um diagnóstico etiológico das infecções devido a *Pneumocystis jirovecii* (carinii), H. capsulatum, Blastomyces dermatitidis ou C. immitis/posadasii, respectivamente. Ainda que a aparência morfológica de Candida, um mucormiceto (zigomiceto), ou Trichosporon no tecido pudesse levar ao diagnóstico do tipo de infecção (i.e., candidíase, mucormicose [zigomicose], tricosporonose), a espécie atual de fungo que causa a infecção permaneceria desconhecida dependendo da cultura. A detecção microscópica dos fungos nos tecidos serve para orientar o laboratório na seleção dos meios mais apropriados à cultura da amostra e também é útil para determinar a correlação com os resultados da cultura. Essa última consideração é especialmente verdadeira quando o organismo isolado na cultura é um componente conhecido da microbiota normal ou é encontrado com frequência no ambiente.

O exame micológico direto é útil no diagnóstico da infecção fúngica: entretanto, os resultados falso-negativos e falso-positivos podem ocorrer. A microscopia é menos sensível que cultura, e um exame direto negativo não exclui uma infecção fúngica.

Um número de diferentes corantes e técnicas microscópicas pode ser utilizado para detectar e caracterizar os fungos diretamente no material clínico (Tabela 60-2). As abordagens utilizadas com mais frequência no laboratório de micologia clínica incluem o reagente fluorescente branco de calcoflúor ou a coloração de esfregaços e preparados de pouca quantidade com coloração de Gram ou corante de Giemsa. O branco de calcoflúor cora a parede celular dos fungos, fazendo que eles adquiram fluorescência, permitindo a detecção mais fácil e mais rápida (Fig. 60-1). A coloração de Gram é útil na detecção de leveduras, como as espécies de *Candida* ou *Cryptococcus* (Fig. 60-2), mas também cora hifas de fungos filamentosos, como *Aspergillus* (Fig. 60-3). Os fungos se coram tipicamente como Gram-positivos, porém podem parecer descorados ou Gram-negativos (Figs. 60-2 e 60-3). O corante de Giemsa é especialmente útil na detecção de leveduras intracelulares de *Histoplasma capsulatum* nos esfregaços de sangue periférico, na medula óssea, ou em preparados com pouca quantidade de tecido (Fig. 60-4).



Métodos e Colorações Comumente Utilizados para Detecção Microscópica Direta dos Elementos Fúngicos

Método/Coloração	Utilização	Comentários
Coloração branco de calcoflúor	Detecção de todos os fungos, incluindo <i>Pneumocystis</i> jirovecii (carinii)	Rápida (1–2 minutos), detecta a quitina da parede celular fúngica pelo brilho fluorescente. Utilizada em combinação com KOH. Requer microscópio fluorescente com filtros adequados. A fluorescência de fundo pode tornar difícil o exame de algumas amostras.
Tratamento com anticorpo monoclonal fluorescente	Exame da amostra respiratória por <i>Pneumocystis jirovecii</i> (<i>carinii</i>)	Método sensível e específico para detecção de ascósporos de <i>Pneumocystis jirovecii</i> (<i>carinii</i>). Não cora as formas extracísticas (tróficas).
Coloração de Giemsa	Exame de medula óssea, esfregaços de sangue periférico, preparados com pouca quantidade de tecido e amostras respiratórias	Detecta <i>Histoplasma capsulatum</i> intracelular e as formas tróficas e intracísticas de <i>Pneumocystis jirovecii</i> (<i>carinii</i>). Não cora a parede do <i>Pneumocystis</i> . Cora outros organismos além de <i>Histoplasma</i> e <i>Pneumocystis</i> .
Coloração de Gram	Detecção de bactérias e fungos	Realizada comumente em amostras clínicas. Cora a maioria das leveduras e hifas. Muitos fungos se coram como Gram-positivos, mas alguns, como <i>Cryptococcus neoformans</i> , exibem pontilhado ou aparecem como Gramnegativos.
Coloração pela hematoxilina e eosina (H&E)	Coloração histológica	Melhor coloração para demonstrar reação do hospedeiro no tecido infectado. Cora a maioria dos fungos, porém um pequeno número de organismos pode ser difícil de diferenciar da coloração de fundo. Útil na demonstração do pigmento natural dos fungos dematiáceos.
Coloração pela prata metenamina de Gomori	Detecção de fungos nos cortes histológicos e ascósporos de <i>Pneumocystis jirovecii</i> (<i>carinii</i>) em amostras respiratórias	Melhor coloração na detecção de todos os fungos. Cora hifas e leveduras em negro contra um fungo verde. Normalmente realizada no laboratório de histopatologia.
Coloração de mucicarmim	Coloração histopatológica para mucina	Útil na demonstração de material capsular de <i>Cryptococcus neoformans</i> . Também podem corar as paredes celulares de <i>Blastomyces dermatitidis</i> e <i>Rhinosporidium seeberi</i> .
Coloração pelo método do ácido periódico de Schiff (PAS)	Coloração histológica para fungos	Cora tanto leveduras quanto hifas no tecido. Artefatos PAS-positivos podem lembrar células leveduriformes.

Modificada de Pfaller MA, McGinnis MR: The laboratory and clinical mycology. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone.

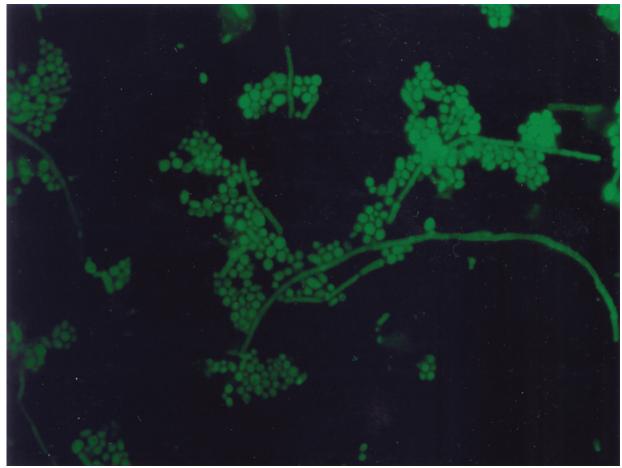


FIGURA 60-1 Corante branco de calcoflúor demonstrando blastoconídios e pseudo-hifas de Candida albicans.



FIGURA 60-2 Coloração de Gram de *Cryptococcus neoformans*. Leveduras encapsuladas com brotamento e de tamanho variável, mostrando um padrão puntiforme devido à retenção irregular da coloração do cristal violeta.

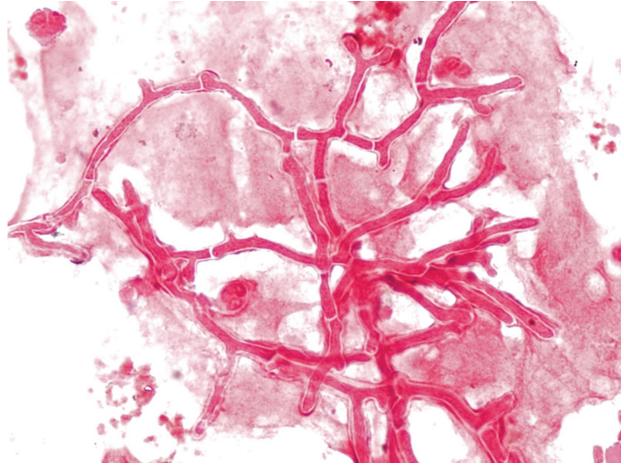


FIGURA 60-3 Coloração de Gram de *Aspergillus*. Esta amostra não reteve a coloração do cristal violeta e se cora como Gram-negativa.

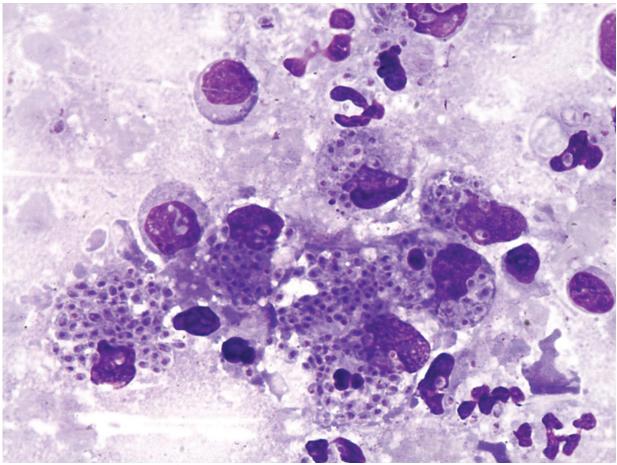


FIGURA 60-4 Coloração de Giemsa mostrando formas intracelulares de leveduras de *Histoplasma capsulatum*.

O patógeno respiratório *Pneumocystis jirovecii (carinii*) pode ser detectado no escarro induzido ou nas amostras obtidas por broncoscopia. Os cistos podem ser corados com corantes de metenamina prata de Gomori (GMS) (Fig. 60-5) ou por anticorpo monoclonal fluorescente, e as formas tróficas e intracísticas são coradas com o corante de Giemsa (Fig. 60-6).

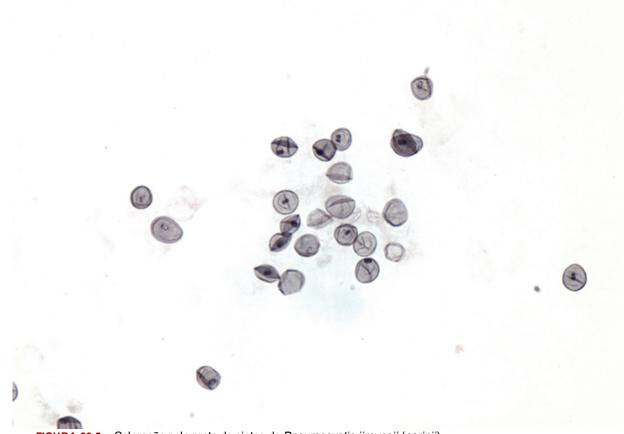


FIGURA 60-5 Coloração pela prata de cistos de Pneumocystis jirovecii (carinii).

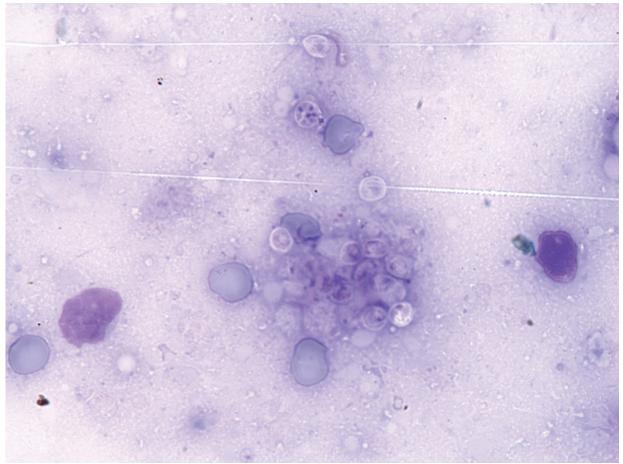


FIGURA 60-6 Coloração de Giemsa mostrando formas tróficas e intracísticas de *Pneumocystis jirovecii* (carinii).

Colorações como hematoxilina e eosina (H&E), GMS e o ácido periódico de Schiff (PAS) são utilizados em citologia e/ou histopatologia e usados para a detecção de fungos em preparos citológicos, aspirados com agulha, tecidos, líquidos corporais e exsudatos (Tabelas 60-1 e 60-2). Esses corantes podem detectar fungos como *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis/posadasii*, *Candida* spp., *C. neoformans* e as hifas dos mucormicetos (zigomicetos) (Fig. 60-7), *Aspergillus* e outros fungos filamentosos. Os fungos podem ser visualizados com a coloração de H&E; porém, um pequeno número de organismos pode não ser detectado. Os corantes mais específicos aos fungos são o GMS e PAS. São úteis na detecção de um pequeno número de organismos e claramente na definição dos aspectos característicos da morfologia fúngica. O exame histológico do tecido fixado dá a oportunidade para determinar se o fungo está invadindo ou está apenas presente de maneira superficial, informação que será útil na distinção entre a infecção e a colonização. Os aspectos morfológicos microscópicos de vários dos patógenos mais comuns estão apresentados na Tabela 60-3.

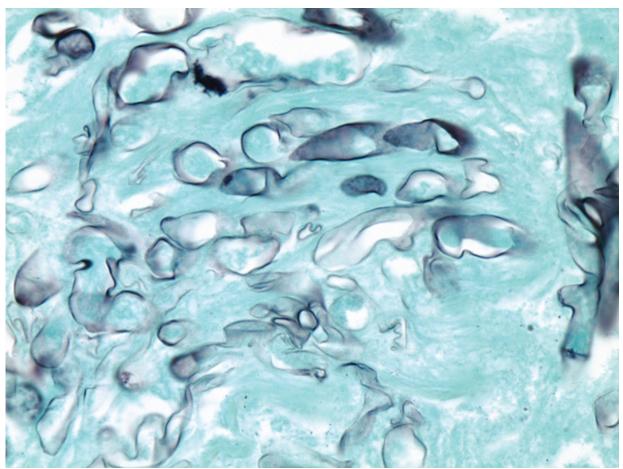


FIGURA 60-7 Coloração pela prata de Rhizopus.

Aspectos Características de Fungos Patógenos e Oportunistas em Amostras Clínicas e em Cultura

	Morfologia Microscópica	Aspectos Morfológicos Cara	That a Additional	
Fungo	Características em Amostras Clínicas	Macroscópicos	Microscópicos	Testes Adicionais para Identificação
Leveduras ovais de 2–6 μι de diâmetro; hifas e pseudo-hifas podem estar presentes		Morfologia variável; colônias geralmente pastosas, brancas a castanhas, e opacas; podem ter morfologia lisa ou enrugada	Grupos de blastoconídios, pseudo-hifas e/ou clamidósporos terminais em algumas espécies	Produção de tubo germinativo por C. albicans, C. dubliniensis e C. stellatoidea PNA-FISH, MALDI-TOF MS, (MALDI-TOF), sequenciamento genético Assimilação de carboidratos; morfologia em corn meal agar (ágar fubá), CHROMagar (ágar com adição de cromógenos), teste rápido de Trealose
Cryptococcus neoformans	Leveduras esféricas de tamanho variável, 2– 15 µm; cápsula pode estar presente; nenhuma hifa ou pseudo-hifa	Colônias são brilhantes, mucoides, em forma de cúpula e de cor bege a castanha	Leveduras esféricas de tamanho variável com brotamento; cápsula presente; nenhuma pseudo- hifa. As células podem ter diversos brotamentos	Testes para urease (+), fenoloxidase (+) e nitrato redutase (-); aglutinação do látex ou teste de EIA para o antígeno polissacarídeo; corantes mucicarmim e melanina nos tecidos
Aspergillus	Hifas ramificadas dicotômicas e septadas de diâmetro uniforme (3–6 µm)	Varia com a espécie; A. fumigatus: verde-azulada a cinza; A. flavus: verde- amarelada; A. niger: negra	Varia com a espécie; conidióforos com vesículas aumentadas cobertas com métulas ou fiálides em forma de garrafa; as hifas são hialinas e septadas	Identificação baseada na morfologia microscópica e da colônia Sequenciamento de gene
Mucormicetos (zigomicetos)	Hifas largas e pouco septadas, de paredes finas e amplas, de 6–25 µm, com lados não paralelos e ramos aleatórios; as hifas se coram fracamente pelos corantes GMS e frequentemente se coram bem com coloração H&E	As colônias são de crescimento rápido, algodonosas e de cor cinza- acastanhada a preto- acinzentada	Hifas semelhantes a fitas, largas e com poucos septos; esporângio ou esporangíolo produzidos a partir do esporangióforo; rizoides se apresentam em algumas espécies	Identificação baseada nos aspectos morfológicos microscópicos Sequenciamento de gene
Fungos filamentosos dematiáceos (Cap. 57, Tabela 57-5)	Hifas pigmentadas (marrom, castanha ou negra), de 2–6 µm de diâmetro; podem ser ramificadas ou não; muitas vezes contraídas no ponto da septação	As colônias são, geralmente, de crescimento rápido, algodonosas e de cor oliva, negra ou castanha	Variam, dependendo do gênero e da espécie; as hifas são pigmentadas; os conídios podem ser únicos ou em cadeias, lisos ou irregulares e dematiáceos	Identificação baseada na morfologia microscópica e da colônia Sequenciamento de gene

	Morfologia Microscópica	Aspectos Morfológicos Car		
Fungo	Características em Amostras Clínicas	Macroscópicos	Microscópicos	Testes Adicionais para Identificação
Histoplasma capsulatum	Pequenas (2–4 µm) leveduras com brotamento dentro dos macrófagos	As colônias são de crescimento lento e de cor branca ou marrom-clara (25°C); as colônias da fase leveduriforme (37°C) são lisas, brancas e pastosas	Hifas septadas finas que produzem macroconídios tuberculados e microconídios de parede lisa (25°C); pequenas leveduras ovais com brotamentos a 37°C	Demonstração do dimorfismo térmico pela conversão de fungo filamentoso à fase leveduriforme em 37°C; os testes de exoantígeno e de sonda de ácido nucleico permitem a identificação sem a fase de conversão
Blastomyces dermatitidis	Leveduras grandes (8– 15 µm), de parede fina e ampla, com brotamento	As colônias variam de membranosas, colônias leveduriformes a algodonosas, brancas, colônias semelhantes a fungos filamentosos a 25°C; quando crescem a 37°C, as colônias da fase leveduriforme são enrugadas, dobradas e glabras	Hifas septadas hialinas com conídios lisos de célula única (25°C); leveduras grandes de parede fina com brotamento a 25°C	Demonstração do dimorfismo térmico; testes de enxoantígeno e de sonda de ácido nucleico
Coccidioides immitis/posadasii	Esférulas esféricas, de parede fina, com 20– 200 µm; esférulas maduras que contêm endósporos pequenos, de 2–5 µm	As colônias parecem inicialmente úmidas e glabras, tornando-se rapidamente felpudas e branco-acinzentadas, com reverso castanho ou marrom	Hifas hialinas com artroconídios retangulares separados por células disjuntoras vazias	Testes de enxoantígeno e de sonda de ácido nucleico
Sporothrix schenckii	Células leveduriformes de tamanhos variados; algumas podem parecer alongadas ou em forma de charuto; a reação tecidual forma corpos asteroides	As colônias são inicialmente lisas, úmidas e leveduriformes, tornando- se aveludadas à medida que as hifas aéreas se desenvolvem (25°C); colônias pastosas, de castanho a marrom a 37°C	Hifas finas de ramificação septada. Conídios em grupos, em forma de margarida na extremidade do conidióforo (25°C); leveduras de tamanho variável, com brotamentos produzidos a 37°C	Demonstração do dimorfismo térmico; exoantígeno e sonda de ácido nucleico
Talaromyces marneffei	Células leveduriformes intracelulares ovais com septo	As colônias produzem pigmento vermelho que se difunde no meio a 25°C	Hifas septadas com métulas, fiálides com cadeias de conídios em uma distribuição em "pincel" (25°C); as células leveduriformes se dividem por fissão (25°C)	Demonstração do dimorfismo térmico
Pneumocystis jirovecii (carinii)	Os cistos são arredondados, colapsados ou de forma crescente; formas tróficas observadas com corantes especiais	(Não aplicável)	(Não aplicável)	Coloração por imunofluorescência, colorações por GMS, Giemsa, azul de toluidina (Tabela 60-2)

EIA, Ensaio imunoenzimático; GMS, prata metenamina de Gomori; H&E, hematoxilina e eosina; MALDI-TOF MS, Espectometria de Massa por dessorção/ionização de laser em matriz assistida; PNA-FISH, ácido nucleico peptídico, hibridização in situ fluorescente.

Cultura

O isolamento do fungo em cultura é considerado, em geral, o método mais sensível de diagnosticar uma infecção fúngica. A cultura é também necessária, muitas vezes, para identificar os agentes etiológicos. A recuperação dos fungos do material clínico depende da obtenção de uma amostra clínica adequada e da utilização dos métodos de cultura que permitam a recuperação de organismos presentes, em geral, em pequenas quantidades e de crescimento lento. Sozinho, nenhum meio

de cultura é suficiente para isolar todos os fungos clinicamente importantes, de modo que, na maioria das vezes, aceita-se que devam ser utilizados, pelo menos, dois tipos de meios, seletivo e não seletivo. O meio não seletivo permitirá o crescimento de leveduras e fungos filamentosos que crescem rapidamente, assim como os fungos mais exigentes de crescimento mais lento. Os fungos crescerão em muitos meios utilizados para bactérias; entretanto, o crescimento pode ser lento, e um meio mais enriquecido, como ágar com infusão de cérebro e coração (BHI, do inglês, brain heart infusion) ou ágar Sabouraud dextrose e BHI (SABHI, do inglês, Sabouraud dextrose and BHI), é recomendado. Os fungos dimórficos exigentes, como Histoplasma capsulatum e Blastomyces dermatitidis, requerem em geral um meio contendo sangue, como o BHI com 5% a 10% de sangue de carneiro, para a recuperação ideal do material clínico. A ciclo-heximida é adicionada, muitas vezes, a esse meio para inibir leveduras e fungos filamentosos de crescimento mais rápido que possam contaminar a amostra. Ainda que a ciclo-heximida não afete os patógenos dimórficos endêmicos, ela inibirá o crescimento de muitos patógenos oportunistas (p.ex., Candida, Aspergillus) que também poderiam ser os agentes etiológicos da infecção. Por essa razão, sempre se deve cultivar em meio contendo ciclo-heximida e meio complementar sem ciclo-heximida. As amostras que podem estar contaminadas com bactérias devem ser inoculadas em meios seletivos, como o SABHI ou BHI suplementados com antibióticos (penicilina mais estreptomicina são frequentemente utilizadas). Os fungos específicos podem necessitar de meios especializados. Por exemplo, Malassezia furfur, um agente que causa infecção superficial da pele e infecção por cateteres vasculares, necessita de um meio contendo azeite de oliva ou outra fonte de ácidos graxos de cadeia longa para

Os meios de cultura foram formulados para prover a identificação presuntiva da levedura baseada na morfologia da colônia. A adição de certos substratos ou cromógenos ao meio ágar permite a detecção direta das características das atividades enzimáticas específicas das espécies de levedura selecionada. CHROMagar de *Candida* é um dos meios que podem ser usados para isolar e fazer identificação presuntiva simultaneamente de *Candida albicans, Candida tropicalis* e *Candida krusei*. CHROMagar é seletivo para fungos, e o uso desse meio encurta o tempo para a identificação presuntiva de organismos e permite uma detecção mais fácil de várias espécies de levedura presentes em uma amostra baseada nas cores características das colônias produzidas por diferentes espécies de *Candida* (Fig. 67-5). CHROMagar pode serassociado ao teste rápido de Trealose (RAT) para identificação de *Candida glabrata*, e tem se mostrado útil na rápida identificação e detecção de espécies de *Candida* susceptíveis ao fluconazol diretamente de culturas de sangue. Outro meio cromogênico e teste rápido colorimétrico baseados na detecção de L-prolina aminopeptidase e beta-galactose-aminidase têm sido desenvolvidos especificamente para a rápida identificação de *C. albicans*.

A detecção de fungemia é uma medida importante no diagnóstico da infecção fúngica invasiva. Ainda que possa ocorrer a contaminação das hemoculturas com um fungo, a maior parte delas, com resultados positivos para fungos, tem importância clínica. Infelizmente, as hemoculturas têm, muitas vezes, resultados negativos, apesar da presença de doença disseminada, em especial quando o organismo infeccioso é um fungo filamentoso. A detecção de fungemia tem melhorado devido ao desenvolvimento da monitoração contínua dos instrumentos de hemocultura com formulações melhoradas dos meios que levam em consideração as necessidades nutricionais dos fungos, bem como das bactérias. Além desses sistemas de meios líquidos de cultura, o método baseado na lise-centrifugação e meios sólidos de cultura fornece um método flexível e sensível à detecção da fungemia causada por leveduras, fungos filamentosos e fungos dimórficos (Tabela 60-1).

Uma vez inoculadas, as culturas fúngicas devem ser incubadas em aerobiose, em uma temperatura adequada e por um período suficiente para assegurar a recuperação dos fungos a partir das amostras clínicas. A maioria dos fungos cresce adequadamente entre 25° e 30°C, ainda que muitas espécies de *Candida* possam ser recuperadas de hemoculturas incubadas em 35° a 37°C. As placas de cultura devem ser vedadas com fitas gás-permeáveis, a fim de evitar a desidratação. As amostras submetidas à cultura de fungos são incubadas, geralmente, por 2 semanas; entretanto, muitas hemoculturas positivam entre 5 e 7 dias. A determinação da significância clínica de um isolado fúngico deve ser feita em consulta com o médico responsável no contexto clínico do paciente.

Características para Identificação de Diferentes Fungos

A determinação da identidade de um agente etiológico específico da doença fúngica deve ter influência direta no prognóstico e nas escolhas terapêuticas. Torna-se claro que uma única abordagem terapêutica (p.ex., como a utilização da anfotericina B) é inadequada para muitas infecções fúngicas (Cap. 61). A identificação dos patógenos fúngicos pode ter implicações diagnósticas e epidemiológicas adicionais. O conhecimento do gênero e da espécie do agente infeccioso também pode proporcionar acesso aos registros fúngicos e à literatura, em que as experiências de outros podem servir como guia ao curso clínico da infecção e resposta à terapia, especialmente para as muitas infecções fúngicas oportunistas incomuns.

Distinguir os fungos leveduriformes dos fungos filamentosos é o primeiro passo na identificação de um isolado fúngico. A morfologia da colônia fornece, em geral, uma boa indicação, pois os leveduriformes formam colônias pastosas opacas e os filamentosos formam colônias filamentosas, que variam em textura, cor e topografia. O exame microscópico fornece um delineamento adicional e, muitas vezes, é necessário para a identificação de muitos fungos (Tabela 60-3). A identificação do gênero e da espécie, dependendo do fungo, requer estudo microscópico mais detalhado para delinear as estruturas características. A identificação de leveduras requer, em geral, testes bioquímicos e fisiológicos adicionais, enquanto a identificação conjunta de leveduras e fungos filamentosos pode ser auxiliada por caracterização imunológica, molecular e proteômica especializada (Tabela 60-3).

Entre os mais novos métodos rápidos de identificação de *Candida* e outras leveduras estão as técnicas de hibridação fluorescente *in situ* (FISH) de ácido nucleico peptídico (PNA) e Espectometria de Massa (MS) por dessorção/ionização de laser em matriz assistida (MALDI-TOF). Os testes de PNA-FISH (AdvanDx, Woburn, MA) baseiam-se em uma sonda PNA marcada com fluoresceína que detecta especificamente *C. albicans*, *C. tropicalis* ou *C. glabrata* como espécies individuais, ou detecta um grupo de espécies de levedura em hemoculturas (p.ex., *C. albicans* e *C. parapsilosis* fluorescem em verde e *C. glabrata* e *C. krusei* fluorescem em vermelho com o kit Yeast Traffic Light PNA-FISH), visando a sequências de RNAr espécie-específicas. As sondas são adicionadas a esfregaços feitos diretamente a partir do conteúdo de hemocultura e são hibridizadas durante 90 minutos. Modificações recentes nas sondas e reagentes deram origem a um teste de segunda geração (*Quick*FISH) que encurta o tempo de ensaio para 30 minutos. Os esfregaços são posteriormente examinados por microscopia de fluorescência. O teste tem demonstrado uma excelente sensibilidade (99%), especificidade (100%), valor preditivo positivo (100%) e valor preditivo negativo (99,3%). Este enfoque deve economizar de 24 a 48 horas comparado com métodos de laboratório convencionais usados para identificação. Isso permite ao médico notar a identidade da levedura diante de resultados de hemoculturas positivas. A rápida e apurada identificação de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei* deve promover uma terapia antifúngica ótima com os agentes de custo eficiente, resultando em melhores prognósticos e economia significativa em fungicidas para o hospital.

MALDI-TOF MS utiliza padrões de peptídeos e massas proteicas espécies-específicas para identificar micro-organismos. Tem-se mostrado altamente apurado na identificação de um vasto leque de bactérias e nos últimos tempos mostrou ser uma rápida e confiável ferramenta para identificação de leveduras, fungos leveduriformes e mofos. A técnica envolve extração de proteínas das células de fungos, pontuando a amostra em uma grelha e cobrindo o local com a matriz. O espectro é gerado rapidamente (≈ 10 minutos por amostra) e comparado a um banco de dados de referência. Em diversos estudos, o método tem-se mostrado altamente preciso, proporcionando uma combinação de menor despesa de consumíveis, fácil interpretação de resultado e um tempo rápido de resposta. As limitações, até agora, incluem a falta de bancos de dados robustos para as leveduras menos comuns e relativamente fraco desempenho na identificação de mofos, para além das espécies de *Aspergillus*.

A identificação de fungos leveduriformes em espécies requer, muitas vezes, a determinação do perfil bioquímico e fisiológico do agente, além da avaliação da morfologia microscópica (Tabela 60-3). Embora a sequenciação de ácidos nucleicos e métodos de proteômica estejam tornando-se rapidamente os métodos-padrão para identificação de bolores, o método clássico baseia-se quase inteiramente na sua morfologia microscópica. Os aspectos importantes incluem a forma, o método de produção e o arranjo dos conídios ou esporos, assim como o tamanho e a aparência das hifas. O preparo do material para o exame microscópico deve ser feito de tal modo que produza uma ruptura mínima do arranjo das estruturas reprodutivas e de seus conídios ou esporos. A determinação da presença de melanina e o dimorfismo térmico também são aspectos importantes. Os testes imunológicos e/ou testes baseados em sondas de ácidos nucleicos são muitas vezes utilizados para identificar os patógenos dimórficos endêmicos, e o sequenciamento do ácido nucleico é aplicado como método na identificação de uma variedade de fungos filamentosos. Os aspectos característicos de vários patógenos dimórficos e filamentosos comumente isolados estão relacionados na Tabela 60-3.

Abordagens baseadas em amplificação de bases moleculares estão sendo desenvolvidas para fornecer identificação mais rápida e objetiva de bolores e leveduras, em comparação com métodos fenotípicos tradicionais. Alvos ribossômicos e a sequência ITS (*Internal Transcribed Spacer*) têm mostrado ser uma promessa singular para a identificação molecular de alguns fungos. Vários estudos recentes têm confirmado o tremendo potencial dessas abordagens como ferramentas poderosas na identificação de leveduras e bolores clinicamente importantes; no entanto, os bancos de dados de sequências existentes são limitados no que diz respeito tanto à qualidade como à precisão de suas entradas. Nos dias de hoje, com a disponibilidade de melhoria das técnicas de sequenciamento, mais amplas e mais confiáveis bases de dados e kits de *softwares* mais facilmente disponíveis, essa tecnologia se tornou uma alternativa competitiva às técnicas clássicas micológicas de identificação usadas para fungos clinicamente importantes.

Marcadores Imunológicos, Moleculares e Bioquímicos para a Detecção Direta de Doença Fúngica Invasiva

Testes diagnósticos rápidos, sensíveis e específicos para as infecções fúngicas devem proporcionar uma aplicação rápida focada em medidas terapêuticas específicas. Como tais, os testes para detecção de anticorpos e antígenos, metabólitos e ácidos nucleicos específicos do fungo são bastante atrativos. Um progresso considerável tem sido feito em várias dessas áreas nos últimos anos (Tabela 60-4), embora, com algumas exceções, tais testes ainda permaneçam confinados aos laboratórios de referência ou ao cenário de pesquisa.



Marcadores Antigênicos, Bioquímicos e Moleculares para Detecção Direta das Infecções Fúngicas Invasivas

Organismo	Componentes da Parede Celular ou Cápsula	Antígenos Citoplasmáticos	Metabólitos	Sequências Genômicas do DNA*
Candida	Mananas LA RIA EIA 1,3-β-glicanas Teste de límulo Quitina Espectrofotometria	Enolase EIA Imunnoblot Anticorpo contra enolase EIA Produto de degradação da HSP- 90 de 47 kDa Pontos ligados por enzimas (Enzyme-linked dot) Ensaio de imunoligação	d-arabinitol Enzimático rápido CIC/FID Espectroscopia de massa/GLC	Actina Quitina sintase P450 ITS RNA ribossomal
Cryptococcus neoformans	Polissacarídeo capsular LA EIA		d-Manitol Espectroscopia de massa/GLC	Genes RNA ribossomal ITS Gene <i>URA5</i>
Aspergillus	Galactomanana LA EIA RIA 1,3-β-glicanas Teste de límulo Quitina Espectrofotometria		d-Manitol GLC/FID Espectroscopia de massa/GLC	P450 Genes RNA ribossomal ITS Protease alcalina Mitocondrial
Blastomyces dermatitidis	Parede celular RIA para proteína de adesão da parede celular de 120 kD EIA para galactomanano			Genes RNA Ribossomal ITS
Histoplasma capsulatum	Parede celular RIA e EIA para antígeno polissacarídeo			Genes RNA ribossomal ITS
Talaromyces marneffei	Manoproteína de parede celular EIA			ITS
Coccidioides immitis	Galactomanano da parede celular EIA			Genes RNA ribossomal

Modificada de Mujeeb I, et al: Fungi and fungal infections. In McClatchey KD, editor: Clinical laboratory medicine, ed 2, Philadelphia, 2002, Lippincott Williams & Wilkins.

DNA, Ácido desoxirribonucleico; EIA, imunoensaio enzimático; FID, detector da chama de ionização; GLC, cromatografia de gás-líquido; HSP-90, proteína de choque térmico 90; ITS, região interespaçadora interna; IA, aglutinação de látex; P450, gene de C-14 lanosterol demetilase; RIA, radioimunoensaio; RNA, ácido ribonucleico.

A determinação dos títulos de anticorpos (Ac) e/ou antígenos (Ag) no soro pode ser útil no diagnóstico das infecções fúngicas. Quando realizada de modo seriado, títulos de Ac/Ag também fornecem um meio de monitoramento da progressão da doença e da resposta do paciente à terapia. Com exceção dos testes de anticorpos para histoplasmose e coccidioidomicose, entretanto, a maioria dos anticorpos é desprovida de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico das infecções fúngicas invasivas.

A detecção da parede celular fúngica, dos antígenos citoplasmáticos e metabólitos no soro ou de outros líquidos corporais representa um método direto de fornecer um diagnóstico sorológico da infecção fúngica invasiva (Tabela 60-4). Os melhores exemplos desta abordagem são os testes comercialmente disponíveis para detecção dos antígenos polissacarídeos de *C. neoformans* e *H. capsulatum*. Esses testes provaram ser de grande valor no diagnóstico rápido da meningite criptocócica e histoplasmose disseminada, respectivamente. Os imunoensaios para detecção de galactomanana de *Aspergillus* e manana e antimanana de *Candida* estão comercialmente disponíveis.

Outro componente da parede celular fúngica específica é a β -(1,3)-glicana. Esse material pode ser detectado no soro de pacientes infectados por *Candida, Aspergillus* e *P. jirovecii* por meio de sua interação no teste de límulo. Os estudos desse teste para a β -glicana, que indica a presença de fungos mas não identifica o gênero causador da infecção, têm sido promissores em certas populações de pacientes altamente selecionados.

A detecção dos metabólitos fúngicos tem potencial para o rápido diagnóstico da candidíase e aspergilose (Tabela 60-4). A detecção do d-arabinitol no soro parece ser uma indicação da candidíase disseminada, enquanto a detecção de níveis elevados de d-manitol no lavado broncoalveolar pode ser útil no diagnóstico da aspergilose pulmonar. A utilidade diagnóstica da detecção de metabólitos permanece incerta devido à falta de um teste comercialmente disponível e aos problemas de variabilidade dependente do método na sensibilidade e especificidade.

^{*} Todas as sequências detectadas pela reação em cadeia da polimerase.

A aplicação da reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês, polymerase chain reaction) para detectar os ácidos nucleicos específicos aos fungos diretamente no material clínico oferece uma grande esperança no diagnóstico rápido das infecções fúngicas. Uma variedade de sequências específicas tem sido investigada, e descobriu-se que essas sequências têm um potencial valor diagnóstico à maioria dos patógenos fúngicos oportunistas e sistêmicos (Tabela 60-4). Os desenvolvimentos recentes, como a tecnologia de *chip* genômica em tempo real e o acoplamento da nanotecnologia com detecção por ressonância magnética, facilitarão a ampla utilização dessa tecnologia, embora ainda não esteja disponível em muitos laboratórios de micologia. Uma recente metanálise de PCR no diagnóstico de doença invasiva verificou que a utilização de sangue total como amostra de teste, alvos pan-fungo *multilocus* (p.ex., rRNA, alvos gene P450) e uma detecção limite *in vitro* não superior a 10 unidades de formação de colônia (CFU)/ml, promoveu sensibilidade e especificidade ótima. Avanços recentes na tecnologia prometem diminuir o limite de detecção de *Candida* em sangue total para valores tão baixos quanto 1 CFU/mL.

Além da detecção dos fungos no material clínico, os métodos imunológicos, moleculares e proteômicos também provaram utilidade na identificação dos fungos em cultura. As sondas de ácidos nucleicos são úteis na identificação dos patógenos dimórficos endêmicos, e a análise das sequências de ácido desorribonucleico ribossômico está sendo aplicada às leveduras e aos fungos filamentosos oportunistas comuns e incomuns. Com a expansão das bases de dados fúngicas, a MALDI-TOF MS está se tornando rapidamente estabelecida como uma abordagem rápida, precisa e custo-efetiva para a identificação de leveduras e mofos em culturas. Os testes de imunodifusão utilizando exoantígenos são aplicados amplamente para identificar *H. capsulatum*, *B. dermatitidis* e *C. immitis/posadassi*, evitando-se a necessidade de demonstrar o dimorfismo térmico na identificação de tais agentes (Tabela 60-3).

Referências Bibliográficas

Alexander BD, Pfaller MA. Contemporary tools for the diagnosis and management of invasive mycoses. *Clin Infect Dis.* 2006;43(Suppl 1):S15–S27.

Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol*. 2011;49:665–670. Borman AM, Johnson EM. Genomics and proteomics as compared to conventional phenotypic approaches for the identification of the agents of invasive fungal infections. *Curr Fungal Infect Rep*. 2013;7:235–243.

Guarner J, Brandt ME. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. Clin Microbiol Rev. 2011;24:247–280.

Karageorgopoulos DE, Vouloumanou EK, Ntziora F, et al. β-d-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a metaanalysis. Clin Infect Dis. 2011;52:750–770.

Neely LA, Audeh M, Phung NA, et al. T2 magnetic resonance enables nanoparticle-mediated rapid detection of candidemia in whole blood. *Sci Transl Med*. 2013;5:182ra54.

Pfaller MA, McGinnis MR. The laboratory and clinical mycology. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. ed 2 New York: Churchill Livingstone; 2009.

CAPÍTULO 61

Agentes Antifúngicos

A terapia antifúngica tem sido submetida a uma grande transformação nos últimos anos. Desde o domínio exclusivo dos agentes anfotericina B e 5-fluorocitosina, que eram tóxicos e difíceis de usar, o tratamento da doença fúngica tem avançado pela disponibilidade de novos agentes ativos sistemicamente e novas formulações de outros agentes antigos que fornecem eficácia comparável ou mesmo superior, com toxicidade menos significativa.

Neste capítulo, revisaremos os agentes antifúngicos, sistêmicos e tópicos (Tabela 61-1). Discutiremos seus espectros, potência, modo de ação e indicações clínicas para o uso como agentes terapêuticos. Também discutiremos os mecanismos de resistência das várias classes de agentes antifúngicos e os métodos *in vitro* para determinação da sensibilidade e resistência dos fungos aos agentes disponíveis.



Agentes Antifúngicos Sistêmicos e Tópicos em Uso e em Desenvolvimento

Alilaminas Nafitina			
Nafitina			
Terbinafina	Tópica Oral, tópica	Inibição da esqualeno	A terbinafina tem amplo espectro e atua sinergicamente com outros antifúngicos
Antimetabólitos	Orai, topica	epoxidase	
Antimetabolitos			
Flucitosina	Oral	Inibição da síntese de DNA e RNA	Utilizada em combinação com anfotericina B e fluconazol; toxicidade e resistência secundária são problemas
Imidazólicos			
Cetoconazol, bifonazol, clotrimazol, econazol, miconazol, oxiconazol, sulconazol, terconazol, tioconazol	Oral, tópica	Inibe a enzima lanosterol 14-α- demetilase, dependente do citocromo P-450	O cetoconazol tem modesta atividade de amplo espectro e problemas de toxicidade
Triazólicos			
Fluconazol	Oral, IV	O mesmo dos imidazólicos, porém com ligação mais específica ao alvo	Espectro limitado (leveduras); boa penetração no sistema nervoso central; boa atividade <i>in vivo</i> ; resistência primária e secundária é observada com <i>Candida krusei</i> e <i>Candida glabrata</i> , respectivamente
Itraconazol	Oral	O mesmo dos imidazólicos, porém com ligação mais específica à enzima-alvo	Atividade de amplo espectro; absorção irregular; toxicidade e interações com outros medicamentos são um problema
Voriconazol	Oral, IV	O mesmo dos imidazólicos, porém com ligação mais específica à enzima-alvo	Amplo espectro incluindo leveduras e fungos filamentosos; ativo contra <i>Candida krusei;</i> muitas interações medicamentosas
Posaconazol	Oral IV	O mesmo dos imidazólicos, porém com ligação mais específica à enzima-alvo	Amplo espectro, incluindo atividade contra Mucormicetos
Isavuconazol	Oral, IV	O mesmo dos imidazólicos, porém com ligação mais específica à enzima-alvo	Amplo espectro, incluindo leveduras e fungos filamentosos; aprovado pela FDA para o tratamento da aspergilose invasiva e mucormicose invasiva
Albaconazol, ravuconazol		O mesmo dos outros azólicos	Em avaliação; amplo espectro, incluindo leveduras e fungos filamentosos

Agentes Antifúngicos	Via	Mecanismo de Ação	Comentários
Caspofungina, anidulafungina, micafungina	IV	Inibição da síntese de glicana da parede celular fúngica	A caspofungina é aprovada para o tratamento da candidíase invasiva e da aspergilose; a anidulafungina é aprovada para o tratamento da candidíase invasiva; a micafungina é aprovada para o tratamento da candidíase invasiva; atividade fungicida contra <i>Candida</i>
Aminocandina		O mesmo das outras equinocandinas	Em avaliação
Polienos			
Anfotericina B	IV, tópica	Liga-se ao ergosterol, causando dano oxidativo direto na membrana	Agente estabelecido; amplo espectro; tóxico
Formulações lipídicas (complexo lipídico da anfotericina B ou dispersão coloidal, anfotericina B lipossomal)	IV	O mesmo da anfotericina B	Amplo espectro; menos tóxicas, alto custo
Nistatina	Suspensão oral, tópica	O mesmo da anfotericina B	Formulação lipossomal (IV) em avaliação
Outros			
Nicomicina Z	IV	Inibição da síntese de quitina da parede celular fúngica	Agente em avaliação; possivelmente útil em combinação com outros antifúngicos
Derivados da sordarina e azasordarina		Inibição do fator de alongamento 3	Agente em avaliação; atividade de amplo espectro, incluindo <i>Pneumocystis jirovecii</i>
Amorolfina	Tópica	Diversos, variado	
Butenafina HC	Tópica		
Ciclopirox olamina	Tópica]	
Griseofulvina	Oral]	
Haloprogina	Tópica]	
Tolnaftato	Tópica]	
Undecilenato	Tópica		

IV, Intravenosa.

A terminologia apropriada para esta discussão é resumida no Quadro 61-1. Os locais e modos de ação dos antifúngicos são observados na Figura 61-1.



Quadro 61-1 Terminologia

Espectro antifúngico: Variação de atividade de um agente antifúngico contra fungos. Um agente antifúngico de amplo espectro inibe uma ampla variedade de fungos, incluindo os leveduriformes e filamentosos, enquanto um agente de espectro restrito é ativo somente contra um número limitado deles.

Atividade fungistática: Nível da atividade antifúngica que **inibe** o crescimento de um organismo. Isso é determinado *in vitro* testando-se uma concentração padronizada de organismos contra uma série de diluições do antifúngico. A menor concentração do medicamento que inibe o crescimento do organismo é referida como **concentração inibitória mínima (CIM).**

Atividade fungicida: Habilidade de um agente antifúngico para matar um organismo *in vitro* ou *in vivo*. A menor concentração do medicamento que mata 99,9% do teste populacional é denominada **concentração fungicida mínima** (CFM).

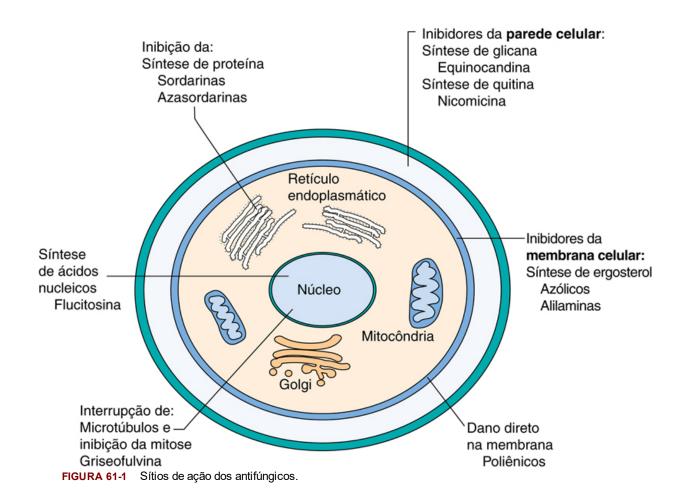
Combinações de agentes antifúngicos: As combinações de agentes antifúngicos podem ser utilizadas (1) para aumentar a eficácia no tratamento de uma infecção fúngica refratária; (2) para ampliar o espectro da terapia antifúngica empírica;

(3) para prevenir a emergência de organismos resistentes e (4) para alcançar um efeito sinérgico.

Sinergismo antifúngico: Combinações de agentes antifúngicos que têm atividade antifúngica intensificada quando utilizados juntos, comparada com a atividade de cada agente isoladamente.

Antagonismo antifúngico: Combinação de agentes antifúngicos em que a atividade de um dos agentes interfere na atividade do outro agente.

Bombas de efluxo: Famílias de transportadores de medicamentos que servem para bombear ativamente agentes antifúngicos para fora das células fúngicas, diminuindo assim a quantidade de medicamento intracelular disponível para se ligar ao seu alvo.



Agentes Antifúngicos Ativos Sistemicamente

A **anfotericina B** e suas formulações lipídicas são antifúngicos macrolídeos poliênicos utilizados no tratamento de infecções fúngicas graves com risco de morte (Tabela 61-1). Outro poliênico, a nistatina, é um agente para uso tópico. Uma formulação lipídica de nistatina foi desenvolvida para uso sistêmico, porém permanece em investigação.

A estrutura básica dos poliênicos consiste em um anel lactâmico, uma cadeia lipofílica rígida contendo 3 a 7 duplas ligações e uma porção hidrofílica flexível contendo vários grupos hidroxilas (Fig. 61-2). A anfotericina B contém 7 duplas ligações conjugadas e pode ser inativada pelo calor, luz e extremos de pH. É pouco solúvel em água e não é absorvida pela administração por via oral e intramuscular. A formulação convencional da anfotericina B para administração intravenosa (IV) é a anfotericina B desoxicolato. As formulações lipídicas da anfotericina B foram desenvolvidas na tentativa de contornar a natureza nefrotóxica da anfotericina B convencional e, em muitos casos, substituir a forma desoxicolato.

Anfotericina B (polieno)

Cetoconazol (imidazólico)

$$CH_2$$
 CH_2
 CH_2
 CH_2
 CH_2
 CH_3

Fluconazol (triazólico)

5-Fluorocitosina (nucleotídeo)

Caspofungina (equinocandina)

FIGURA 61-2 Estruturas químicas dos antifúngicos representando cinco classes diferentes.

A anfotericina B (e suas formulações lipídicas) exerce sua ação antifúngica por pelo menos dois diferentes mecanismos. O mecanismo primário envolve a ligação da anfotericina B ao ergosterol, o principal esterol da membrana do fungo. Essa ligação produz canais iônicos, que destroem a integridade osmótica da membrana celular fúngica e leva à perda de constituintes intracelulares e morte da célula (Fig. 61-3). A anfotericina B também se liga ao colesterol, o principal esterol da membrana celular dos mamíferos, porém menos avidamente que ao ergosterol. A ligação da anfotericina B ao colesterol é responsável pela maior parte da toxicidade observada quando ela é administrada em humanos. Um mecanismo de ação adicional da anfotericina B envolve dano direto à membrana, causado pela geração de uma cascata de reações oxidativas desencadeada pela oxidação da própria anfotericina B. Esse processo pode ser o maior contribuinte para uma atividade fungicida rápida da anfotericina B via geração de radicais livres tóxicos.

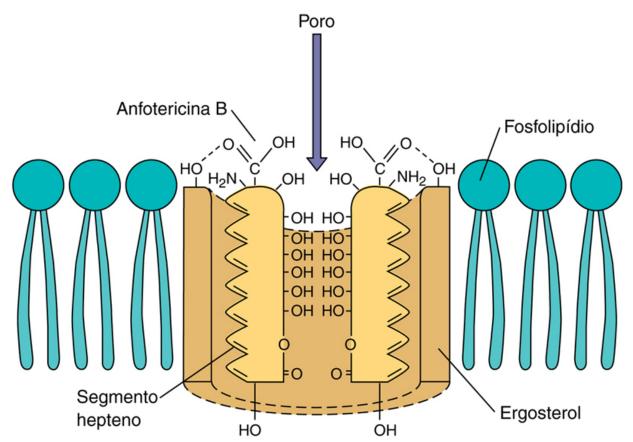


FIGURA 61-3 Mecanismos de ação da anfotericina B.

O espectro de atividade da anfotericina B é amplo e inclui muitas cepas de Candida, Cryptococcus neoformans, Aspergillus spp., Mucormicetos e patógenos dismórficos (Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Paracoccidioides brasiliensis e Talaromyces marneffei) (Tabela 61-2). Aspergillus terreus, Fusarium spp., Pseudallescheria boydii, Scedosporium prolificans, Trichosporon spp. e certos fungos dematiáceos podem ser resistentes à anfotericina B. Igualmente, suscetibilidade reduzida à anfotericina B tem sido observada entre algumas cepas de Candida guilliermondii, Candida glabrata, Candida krusei, Candida lusitaniae e Candida rugosa. A resistência à anfotericina B tem sido associada a alterações nos esteróis da membrana, na maioria das vezes uma redução no ergosterol.

Espectro e Atividade Relativa dos Agentes Antifúngicos Sistemicamente Ativos

Micro-organismo	AMB	FC	KTZ	ITZ	FCZ	VCZ	ECH
Candida spp.							
C. albicans	++ + +	++ + +	+++	++ + +	++ + +	++ + +	++++
C. glabrata	+++	++ + +	++	++	++	+++	++++
C. parapsilosis	++ + +	++ + +	+++	++ + +	++ + +	++ + +	+++
C. tropicalis	+++	++ + +	+++	+++	++ + +	++ + +	++ + +
C. krusei	++	+	+	++	0	++ + +	++++
Cryptococcus neoformans/gattii	++++	+++	+	++	+++	++ + +	0
Aspergillus spp.	++++	0	+	++ + +	0	++ + +	+++
Fusarium spp.	+++	0	0	+	0	+++	0
Mucormicetos	++ + +	0	0	0	0	0	+
Dimórficos Endêmicos	•	•		•		•	
Blastomyces dermatitidis	++ + +	0	++	++ + +	+	++ + +	++
Coccidioides immitis	++ + +	0	++	++ + +	++ + +	++ + +	++
Histoplasma capsulatum	++ + +	0	++	++++	++	++ + +	++
Talaromyces marneffei	++ + +	0	++	++++	++	++ + +	
Sporothrix schenkii	++ + +	0	++	++ + +	++		
Fungos filamentosos demáceos	++ + +	+	++	++ + +	+	++ + +	0

AMB, Anfotericina B; ECH, equinocandinas (anidulafungina, caspofungina e micafungina); FC, flucitosina; FCZ, fluconazol; ITZ, itraconazol; KTZ, cetoconazol; VCZ, voriconazol.

0, Inativo ou não recomendado; +, atividade ocasional; ++, atividade moderada com resistência observada; ++ +, atividade confiável com resistência ocasional; ++ + +, muito ativo, resistência rara ou não descrita.

A anfotericina B é amplamente distribuída em vários tecidos e órgãos, incluindo fígado, pâncreas, rim, medula óssea e pulmão. Embora concentrações insignificantes possam ser encontradas no líquido cefalorraquidiano, ela é geralmente efetiva no tratamento de infecções fúngicas do sistema nervoso central. A anfotericina B é considerada fungicida contra a maioria dos fungos.

As principais indicações clínicas para anfotericina B incluem candidíase invasiva, criptococose, aspergilose, mucormicose, blastomicose, coccidioidomicose, histoplasmose, paracoccidioidomicose, peniciliose (Talaromicoses) marneffei e esporotricose. As formulações lipídicas da anfotericina B são mais eficazes e com toxicidade diminuída e são principalmente recomendadas no tratamento de pacientes com infecções fúngicas documentadas, que não responderam à anfotericina B convencional ou com função renal deficiente.

Os principais efeitos adversos da anfotericina B incluem nefrotoxicidade e efeitos colaterais relacionados à infusão, como febre, calafrios, mialgias, hipotensão e broncospasmo. A principal vantagem das formulações lipídicas desse antifúngico são os efeitos colaterais significativamente reduzidos, em especial a nefrotoxicidade. As formulações lipídicas não são superiores à anfotericina B convencional em termos de eficácia e seus custos são mais elevados.

Azólicos

A classe azólicos dos antifúngicos pode ser dividida, em termos de estrutura, em imidazólicos (dois nitrogênios no anel azólico) e triazólicos (três nitrogênios no anel azólico) (Fig. 61-2). Entre os imidazólicos, somente o cetoconazol tem atividade sistêmica. Todos os triazólicos têm atividade sistêmica e incluem o fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol e isavuconazol (Tabela 61-1). O ravuconazol e albaconazol são também triazólicos, e estão atualmente sendo avaliados (Tabela 61-1).

Tanto os imidazólicos como os triazólicos agem por inibição da enzima lanosterol 14-α-demetilase dependente do citocromo fúngico P450 (Fig. 61-4). Esta enzima está envolvida na conversão do lanosterol em ergosterol, e sua inibição interrompe a síntese da membrana da célula fúngica. Dependendo do organismo e do azólico específico, a inibição da síntese do ergosterol resulta na inibição do crescimento da célula fúngica (fungistático) ou na morte celular (fungicida). Em geral, os azólicos apresentam atividade fungistática contra fungos leveduriformes como *Candida* spp. e *C. neoformans*; entretanto, itraconazol, voriconazol, posaconazol e isavuconazol parecem ser fungicidas contra *Aspergillus* spp.

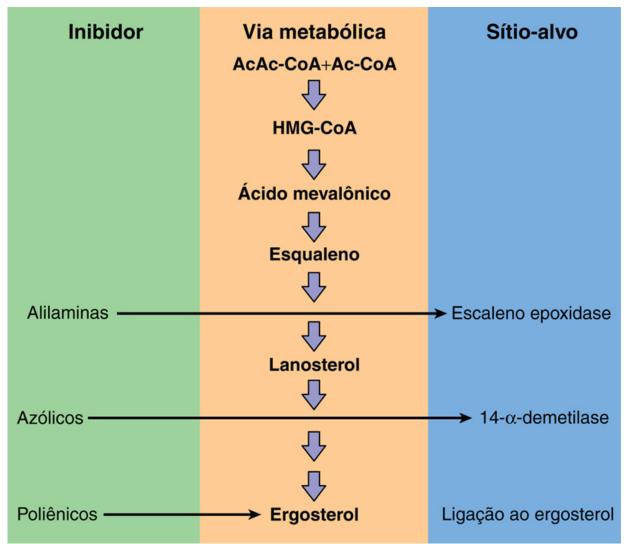


FIGURA 61-4 Via metabólica da síntese do ergosterol, mostrando os sítios de inibição pelos agentes antifúngicos alilaminas, azólicos e polienos. *Ac-CoA*, Acetil-coenzima A; *HMG-CoA*, hidroximetil glutaril-coenzima A

O **cetoconazol** é um membro lipofílico da classe imidazol dos agentes antifúngicos, absorvido por via oral. Seu espectro de atividade inclui os patógenos dismórficos, *Candida* spp., *C. neoformans* e *Malassezia* spp., embora seja quase sempre menos ativo que os agentes antifúngicos triazólicos (Tabela 61-2). Ele é variavelmente ativo contra *P. boydii* e tem pouca ou nenhuma atividade clínica contra Mucormicetos, *Aspergillus* spp., *S. prolificans* ou *Fusarium* spp.

A absorção do cetoconazol por administração oral é irregular e necessita de um pH gástrico ácido. Sua característica lipofílica assegura a penetração e concentração nos tecidos adiposos e exsudatos purulentos; todavia, como é altamente (> 99%) ligado à proteína, ele penetra pouco no sistema nervoso central.

O cetoconazol pode causar efeitos adversos sérios, incluindo toxicidade gástrica e hepática, náusea, vômitos e erupções. Em doses altas, significativos efeitos colaterais endócrinos, secundários à supressão dos níveis de testosterona e cortisol, têm sido observados.

Devido à disponibilidade de agentes mais potentes e menos tóxicos, as indicações clínicas para o uso do cetoconazol são bastante limitadas. É o melhor agente de segunda linha para o tratamento de formas não meníngeas e sem risco à vida de histoplasmose, blastomicose, coccidioidomicose e paracoccidioidomicose em indivíduos imunocompetentes. Similarmente, ele pode ser utilizado no tratamento de candidíase mucocutânea e esporotricose linfocutânea.

O fluconazol é um triazólico de primeira geração com excelente biodisponibilidade oral e baixa toxicidade. Ele é utilizado extensivamente e é ativo contra a maioria das espécies de *Candida*, *C. neoformans*, dermatófitos, *Trichosporon* spp., *H. capsulatum*, *C. immitis* e *P. brasiliensis* (Tabela 61-2). Entre *Candida* spp., suscetibilidade diminuída é observada em *C. krusei* e *C. glabrata*. Ainda que *C. krusei* deva ser considerada intrinsecamente resistente ao fluconazol, infecções por *C. glabrata* podem ser tratadas com sucesso com altas doses (p.ex., 12 mg/kg/dia) de fluconazol. Resistência pode se desenvolver quando o fluconazol é utilizado no tratamento da histoplasmose, e ele apresenta apenas atividade limitada contra *B. dermatitidis*. O fluconazol não é ativo contra os fungos oportunistas, incluindo *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e Mucormicetos.

O fluconazol é um agente solúvel em água e pode ser administrado por via oral ou intravenosa. A ligação à proteína é fraca, e o medicamento é distribuído a todos os órgãos e tecidos, inclusive o sistema nervoso central. Efeitos colaterais graves, como dermatite esfoliativa ou insuficiência hepática, são incomuns.

Devido à sua baixa toxicidade, facilidade de administração e atividade fungistática contra a maioria dos fungos leveduriformes, o fluconazol tem um papel importante no tratamento de candidíase, criptococose e coccidioidomicose. É utilizado como terapia primária na candidemia e na candidíase de mucosa e como profilaxia em populações selecionadas de alto risco. É utilizado em terapia de manutenção de meningite criptocócica em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), e é o agente de escolha no tratamento da meningite causada por *C. immitis*. O fluconazol é um agente de segunda linha no tratamento de histoplasmose, blastomicose e esporotricose.

O **itraconazol** é um triazólico lipofílico que pode ser administrado por via oral, em cápsula ou em solução. O itraconazol tem um amplo espectro de atividade antifúngica, incluindo *Candida* spp., *C. neoformans*, *Aspergillus* spp., dermatófitos, fungos dematiáceos, *P. boydii*, *Sporothrix schenckii* patógenos dismórficos (Tabela 61-2). O medicamento tem atividade contra algumas, mas não todas as cepas de *C. glabrata* e *C. krusei* resistentes ao fluconazol. Cepas de *Aspergillus fumigatus* resistentes ao itraconazol têm sido relatadas; mas são raras. Os Mucormicetos, *Fusarium* e *S. prolificans* são resistentes a ele.

Do mesmo modo que o cetoconazol, a absorção oral do itraconazol é irregular e necessita de um pH gástrico ácido. A absorção é aumentada com a solução oral administrada em jejum. O itraconazol tem uma alta ligação à proteína e exibe atividade fungistática contra fungos leveduriformes e fungicida contra *Aspergillus* spp.

A eficácia do itraconazol no tratamento de candidíase hematogênica não foi avaliada adequadamente, apesar de ser útil no tratamento das formas cutâneas e de mucosas das candidíases. O itraconazol é utilizado, muitas vezes, no tratamento de infecções dermatofíticas, sendo o tratamento de escolha para a esporotricose linfocutânea e sem risco à vida, para as formas não meníngeas da histoplasmose, blastomicose e paracoccidioidomicose. Ele pode ser utilizado na coccidioidomicose não meníngea, no tratamento de manutenção da meningite criptocócica e em algumas formas de feo-hifomicoses (Tabela 61-2). O itraconazol é considerado um agente de segunda linha no tratamento da aspergilose invasiva; entretanto, não é útil para combater infecções causadas por *Fusarium* spp., Mucormicetos ou *S prolificans*.

Em contraste com o fluconazol, interações com outros medicamentos são comuns com o itraconazol. A hepatoxicidade grave é rara, e outros efeitos colaterais, como intolerância gastrointestinal, hipocalemia, edema, erupções e transaminases elevadas, ocorrem ocasionalmente.

O **voriconazol** é um triazólico de amplo espectro com atividade contra *Candida* spp., *C. neoformans, Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., fungos dematiáceos e fungos dismórficos (Tabela 61-2). Entre as espécies de *Candida*, voriconazol é ativo contra *C. krusei* e algumas, mas não todas as, cepas de *Candida albicans* e *C. glabrata* com suscetibilidade reduzida ao fluconazol. Embora o voriconazol não tenha nenhuma atividade contra os Mucormicetos, ele é ativo contra fungos resistentes à anfotericina B, incluindo *A. terreus* e *P. boydii*.

Está disponível em formulações oral e IV. Tem excelente penetração no sistema nervoso central, assim como em outros tecidos. O voriconazol apresenta atividade fungistática contra fungos leveduriformes e fungicida contra Aspergillus spp.

Tem indicação primária no tratamento da aspergilose invasiva. Ele é também aprovado no tratamento de infecções causadas por *P. boydii* e *Fusarium* spp. em pacientes intolerantes ou com infecções refratárias a outros agentes antifúngicos. O voriconazol tem eficácia comprovada no tratamento de várias formas de candidíase e tem sido utilizado com sucesso no tratamento de uma variedade de infecções causadas por patógenos emergentes ou refratários, incluindo abscessos cerebrais causados por *Aspergillus* spp. e *P. boydii*.

O voriconazol é em geral bem tolerado, embora cerca de um terço dos pacientes apresente perturbações visuais transitórias. Outros efeitos adversos incluem anormalidades nas enzimas hepáticas, reações na pele e alucinações ou confusão. As interações com outros medicamentos que são metabolizados pelo sistema enzimático P450 hepático são comuns.

O **posaconazol** é um derivado triazólico com uma estrutura química semelhante à do itraconazol. O posaconazol apresenta potente atividade contra *Candida, Cryptococcus,* fungos dismórficos e fungos filamentosos, incluindo *Aspergillus* e os Mucormicetos.

O posaconazol está disponível como suspensão oral de liberação imediata, contendo polissorbato 80 como agente emulsificante, e em uma formulação IV. Em contraste com o voriconazol, a absorção do posaconazol é aumentada com a ingestão de alimentos e é maior com a ingestão concomitante de refeições ricas em gorduras. Uma grande variabilidade na concentração sérica pode existir de paciente para paciente, sugerindo que o monitoramento de posaconazol na terapêutica pode ser importante na otimização do uso deste agente. Um novo comprimido com liberação prolongada e absorção no intestino delgado, conduzindo a uma melhor biodisponibilidade, também tem sido desenvolvido. Similar ao voriconazol, o posaconazol apresenta atividade fungistática contra fungos leveduriformes e é fungicida contra *Aspergillus* spp.

O posaconazol tem aprovação do U.S. Food and Drug Administration (FDA) para a profilaxia de infecções fúngicas invasivas nos receptores de transplantes de células-tronco hematopoéticas (TCTH) com doença do enxerto *versus* hospedeiro (GVHD, do inglês, *graft-versus-host disease*), em pacientes com malignidades hematológicas e neutropenia prolongada. A FDA também o aprovou para o tratamento de candidíase orofaríngea. Na Europa, posaconazol é adicionalmente aprovado para as seguintes infecções fúngicas refratárias à anfotericina B e/ou ao itraconazol: aspergilose, fusariose, cromoblastomicose, micetoma e coccidioidomicose.

O posaconazol é geralmente bem tolerado. Os eventos adversos mais comuns são leves e incluem desconforto gastrointestinal, erupção cutânea, rubor facial, boca seca e dor de cabeça. Como em outros azólicos, toxicidade hepática tem sido descrita e o monitoramento dos testes de função hepática é recomendado, antes e durante o tratamento com tal medicamento. Interações com outras drogas que são metabolizadas pelo sistema enzimático P450 hepático são comuns.

O **Isavuconazol** (Astellas Pharma, Basilea Pharmaceutica) é um agente antifúngico triazólico solúvel em água que pode ser administrado por via oral ou intravenosa. O isavuconazol tem farmacocinética e proporcionalidade de dose previsíveis e concluiu os ensaios clínicos para o tratamento da candidemia e candidíase invasiva, tratamento de aspergilose invasiva e tratamento de infecções por mofos raros. O isavuconazol demonstrou boa atividade *in vitro* contra *Candida* e outras espécies de leveduras, bem como *Aspergillus* spp. diferentes de *A. niger* e dos membros Mucormicetos. Recentemente (em 2015), foi aprovado pela FDA para o tratamento da aspergilose invasiva e mucormicose invasiva.

Equinocandinas

As equinocandinas são uma nova classe, altamente seletiva, de lipopeptídeos semissintéticos (Fig. 61-2) que inibem a síntese de β -1,3-glicanas, constituintes importantes da parede celular fúngica (Fig. 61-5; ver Tabela 61-1 e Fig. 61-1). Uma vez que as células de mamíferos não contêm β -1,3-glicanas, essa classe de agentes é seletiva, em sua toxicidade, para os fungos em que as glicanas desempenham papel importante na manutenção da integridade osmótica da célula fúngica. As glicanas também são importantes na divisão e no crescimento celular. A inibição do complexo enzimático da síntese de glicana resulta em atividade fungicida contra *Candida* spp. e atividade fungistática contra *Aspergillus* spp. Atualmente, existem três equinocandinas (anidulafungina, caspofungina, micafungina) aprovadas para utilização em tratamento ou prevenção de várias micoses (Tabela 61-1)

Equinocandinas

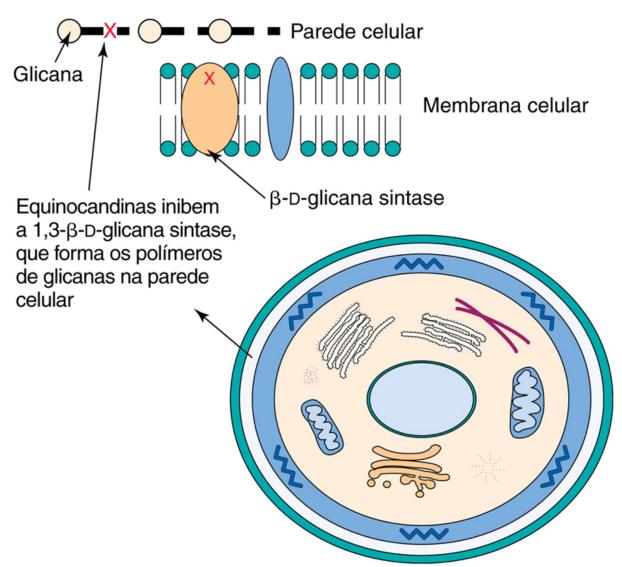


FIGURA 61-5 Mecanismo de ação das equinocandinas.

O espectro de atividade das equinocandinas é limitado àqueles fungos nos quais β-1,3-glicanas constituem o componente glicana, dominante na parede celular. Como tal, são ativas contra *Candida* e *Aspergillus* spp. e têm atividade variável contra os fungos demáceos e os fungos dismórficos (Tabela 61-2). Elas são inativas contra *C. neoformans*, *Trichosporon* spp., *Fusarium* spp. e outros bolores hialinos e Mucormicetos. As equinocandinas têm excelente

atividade contra cepas de *Candida* spp. resistentes ao fluconazol, ainda que estirpes de *C. glabrata*, com corresistência a ambos os azóis e equinocandinas, tenham sido descritas nos Estados Unidos e na Europa. A resistência primária ou adquirida a essa classe de agentes parece ser incomum entre os isolados clínicos de espécies de *Candida* e *Aspergillus*.

As equinocandinas devem ser administradas por via intravenosa e apresentam uma alta ligação a proteína (> 95%). Elas são distribuídas para todos os principais órgãos, embora as concentrações no líquido cefalorraquidiano sejam baixas. Todas as equinocandinas são muito bem toleradas e apresentam poucas interações com outros medicamentos.

Entre as três equinocandinas, todas têm espectro e potência similares contra espécies de *Candida* e *Aspergillus*. A caspofungina é aprovada para o tratamento da candidíase invasiva, incluindo candidemia, e para o tratamento de pacientes com aspergilose invasiva refratária ou intolerantes a outras terapias antifúngicas aprovadas. Anidulafungina é aprovada para o tratamento da candidíase esofágica e candidemia, e a micafungina é aprovada para o tratamento da candidíase esofágica, candidemia e prevenção de candidíase invasiva.

Antimetabólitos

A flucitosina (5-fluorocitosina [5-FC]) é o único agente antifúngico disponível que atua como um antimetabólito. É um análogo da pirimidina fluorada, que exerce atividade antifúngica por interferência na síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA), ácido ribonucleico (RNA) e proteínas da célula fúngica (Fig. 61-1). A flucitosina penetra na célula fúngica via citosina permease e é desaminada em 5-fluoruracil (5-FU) no citoplasma. O 5-FU é convertido em ácido 5-fluoruridílico, que então compete com o uracil na síntese do RNA, resultando em RNA defeituoso e inibição do DNA e da síntese proteica.

O espectro antifúngico da flucitosina é limitado a *Candida* spp., *C. neoformans*, *Rhodotorula* spp., *Sacha-romyces cerevisae*, e fungos filamentosos dematiáceos (Tabela 61-2). Embora a resistência primária à flucitosina seja rara entre isolados de *Candida* spp., a resistência pode se desenvolver entre *Candida* e *C. neoformans* durante a monoterapia com flucitosina. Esse medicamento não é ativo contra *Aspergillus* spp., Mucormicetos ou outros fungos filamentosos hialinos.

A flucitosina é solúvel em água e tem excelente biodisponibilidade quando administrada por via oral. Altas concentrações de flucitosina podem ser obtidas no soro, líquido cefalorraquidiano e outros fluidos corporais. As principais toxicidades são observadas quando as concentrações séricas de flucitosina excedem 100 μg/ml e incluem supressão da medula óssea, hepatotoxicidade e intolerância gastrointestinal. A monitoração das concentrações séricas de flucitosina é importante na prevenção da toxicidade.

Tal antifúngico não é utilizado como monoterapia, devido à propensão à resistência secundária. As combinações de flucitosina com anfotericina B ou fluconazol mostraram-se eficazes no tratamento da criptococose e candidíase.

Alilaminas

A classe alilamina dos agentes antifúngicos inclui a terbinafina, que tem atividade sistêmica, e a naftifina, que é um agente tópico (Tabela 61-1). Esses agentes inibem a enzima esqualeno epoxidase, o que resulta na diminuição do ergosterol e no aumento de esqualeno dentro da membrana da célula fúngica (Figs. 61-1 e 61-4).

A **terbinafina** é um agente antifúngico lipofílico com um amplo espectro de atividade que inclui dermatófitos, *Candida* spp., *Malassezia furfur*, *C. neoformans*, *Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp., *S. schenckii*, *e T. marneffei* (Tabela 61-2). Está disponível em formulações oral e tópica e alcança altas concentrações em tecidos adiposos, pele, cabelos e unhas.

A terbinafina é eficaz no tratamento de praticamente todas as formas de dermatofitoses, incluindo onicomicoses, e exibe poucos efeitos colaterais. Ela tem mostrado eficácia clínica no tratamento da esporotricose, aspergilose e cromoblastomicose, e tem-se apresentado promissora no tratamento de infecções causadas por *Candida* spp. resistentes ao fluconazol quando utilizada em combinação com fluconazol.

Griseofulvina

A griseofulvina é um agente oral utilizado no tratamento de infecções causadas por dermatófitos. Ela inibe o crescimento fúngico pela interação com os microtúbulos dentro da célula fúngica, resultando na inibição da mitose (Tabela 61-1 e Fig. 61-1).

Tal medicamento é considerado um agente de segunda linha no tratamento das dermatofitoses. Agentes mais novos, como itraconazol e terbinafina, são de ação mais rápida e maior eficácia. A griseofulvina também está associada a um número de efeitos colaterais leves, incluindo náusea, diarreia, dor de cabeça, hepatotoxicidade, erupções cutâneas e efeitos colaterais neurológicos.

Agentes Antifúngicos Tópicos

Uma ampla variedade de preparações de antifúngicos tópicos está disponível para o tratamento de infecções fúngicas cutâneas superficiais e de mucosas (Tabela 61-1). Preparações tópicas estão disponíveis para a maioria das classes de agentes antifúngicos, como poliênicos (anfotericina B, nistatina, pimaricina), alilaminas (naftifina e terbinafina) e numerosos imidazólicos e agentes variados (Tabela 61-1). Cremes, loções, pomadas, pós e aerossóis estão disponíveis para utilização no tratamento de infecções cutâneas e onicomicoses, enquanto as infecções de mucosa são mais bem tratadas com suspensões, comprimidos, pastilhas ou supositórios.

A escolha de terapia tópica ou sistêmica para o tratamento das infecções fúngicas cutâneas ou de mucosas geralmente depende da condição do hospedeiro e do tipo e extensão da infecção. Enquanto a maioria das infecções dermatofíticas cutâneas e as candidíases oral e vaginal respondem à terapia tópica, a natureza refratária das infecções como onicomicoses ou *tinea capitis* (tinha do couro cabeludo) requer, geralmente, terapia sistêmica de longo prazo.

Agentes Antifúngicos em Avaliação

Atualmente, há vários agentes antifúngicos em diversos estágios de avaliação clínica. Esses agentes em investigação incluem alguns com mecanismos de ação estabelecidos, algumas novas classes de agentes antifúngicos, como uma formulação lipossômica de nistatina, novos agentes triazólicos (albaconazol e ravuconazol), equinocandinas (aminocandina) e inibidores da glucana sintase, não echinocandina (ML-3118), um inibidor da síntese de quitina (nicomicina Z) e derivados da sordarina e azasordarina (Tabela 61-1). Os mecanismos de ação e espectro de atividade da nistatina lipossômica, dos novos triazólicos e das equinocandinas são essencialmente os mesmos dos membros já disponíveis de cada classe (Tabelas 61-1 e 61-2). Em um grau variado, os novos agentes em cada classe oferecem potencial para propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas mais favoráveis, toxicidades diminuídas ou interações fármaco-fármaco, ou possível atividade aumentada contra certos patógenos refratários aos agentes atualmente disponíveis. Por exemplo, o novo agente MK-3118 partilha o alvo da glucana sintetase com as equinocandinas, mas interage com o alvo em uma posição diferente e, assim, retém atividade contra as estirpes de *Candida* com mutações *fks* que produzem resistência às equinocandinas. A inibição da síntese de quitina na parede celular fúngica pela nicomicina Z fornece uma nova abordagem que pode ser útil na combinação com outros inibidores da síntese da parede celular ou da membrana celular. O desenvolvimento de agentes com novos mecanismos de ação é necessário e promissor para os avanços na área da terapia antifúngica.

Combinação de Agentes Antifúngicos no Tratamento das Micoses

A alta mortalidade de infecções fúngicas oportunistas tem apressado o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos, incluindo alguns com novos mecanismos de ação (Tabela 61-1). Em adição à utilização de novos agentes antifúngicos, como o voriconazol e caspofungina, em monoterapia, a utilização de combinações à base de azólicos, equinocandinas e polienos no tratamento de micoses mais difíceis de serem tratadas (p.ex., infecções por fungos filamentosos oportunistas) é foco de intenso interesse e discussão. O fundamento por trás da terapia combinada é que, pela utilização das combinações de agentes antifúngicos, obtém-se um melhor resultado clínico que com a monoterapia. A iniciativa em direção à utilização da terapia antifúngica combinada é especialmente forte para infecções como a aspergilose invasiva, em que a mortalidade associada é inaceitavelmente alta.

Considerando-se a terapia combinada, busca-se alcançar o sinergismo e evitar o antagonismo. O sinergismo é alcançado quando o resultado obtido com a combinação de agentes é significativamente melhor que o obtido com apenas um ou outro medicamento. Contrariamente, o antagonismo é quando a combinação é menos ativa ou eficiente que um fármaco não combinado. No caso da terapia antifúngica, há vários mecanismos que podem ser considerados no desenvolvimento de uma estratégia de tratamento combinado efetivo. (1) Diferentes estágios da mesma via bioquímica podem ser inibidos. Essa é uma abordagem clássica para a obtenção de sinergismo com agentes anti-infecciosos. Um exemplo de tal abordagem na terapia antifúngica seria a combinação de terbinafina com um azólico, em que ambos os agentes inibem a via do esterol em pontos diferentes (Fig. 61-4), resultando na inibição da síntese do ergosterol e rompimento da membrana celular fúngica. (2) A penetração aumentada de um agente dentro da célula, em virtude da ação permeabilizante de outro agente sobre a parede celular ou membrana celular fúngica, pode ser alcançada. A combinação da anfotericina B (rompimento da membrana celular) e flucitosina (inibição da síntese intracelular do ácido nucleico) é um exemplo clássico dessa interação. (3) A inibição do transporte de um agente para fora da célula por outro agente pode ser alcançada. Muitos fungos utilizam as bombas de efluxo dependentes de energia para bombear ativamente agentes antifúngicos para fora da célula, evitando os efeitos tóxicos do antifúngico. A inibição dessas bombas por agentes, como a reserpina, tem mostrado um aumento da atividade dos agentes antifúngicos azólicos contra Candida spp. (4) Inibição simultânea de diferentes alvos da célula fúngica. A inibição da síntese da parede celular por um agente com a caspofungina, associada à perda da função da membrana celular pela anfotericina B ou azólicos, é um exemplo desse tipo de combinação.

Embora o valor potencial da terapia antifúngica combinada seja um atrativo, existem possíveis desvantagens para essa estratégia que devem ser consideradas. O antagonismo entre os agentes antifúngicos, quando utilizados em combinação, também é uma possibilidade distinta e pode ocorrer por vários mecanismos diferentes. (1) A ação de um agente resulta na diminuição do alvo de outro agente. A ação dos agentes antifúngicos azólicos depleta a membrana celular de ergosterol, que é o alvo primário da anfotericina B. (2) A ação de um agente antifúngico resulta na modificação do alvo de outro agente. A inibição da síntese do ergosterol por agentes antifúngicos azólicos resulta no acúmulo de esteróis metilados, aos quais a anfotericina B se liga menos. (3) Bloqueio do sítio-alvo de um agente por outro pode ocorrer. Os agentes lipofílicos, como itraconazol, podem adsorver à superfície da célula fúngica e inibir a ligação da anfotericina B aos esteróis da membrana.

Apesar desses possíveis cenários positivos e negativos, os dados apoiam a realização do sinergismo quando várias combinações, usadas clinicamente, são limitadas. Do mesmo modo, o antagonismo pode ser demonstrado no laboratório,

mas antagonismo significativo não tem sido observado clinicamente com combinações de antifúngicos. Considerando-se todos os dados laboratoriais e clínicos na terapia antifúngica combinada, chega-se a um número bastante limitado de casos em que a terapia combinada se mostrou benéfica no tratamento de micoses invasivas (Tabela 61-3).



Tabela 61-3

Resumo das Combinações de Antifúngicos Potencialmente Úteis para o Tratamento de Micoses Oportunistas

Infecção	Combinação Antifúngica	Comentários
Candidíase	AMB + FCZ	Boa atividade em pacientes com candidemia
	AMB + FC	Atividade em pacientes com peritonite
Criptococose	AMB + FC	Boa atividade em pacientes com meningite criptocócica
	AMB + FCZ	Atividade em pacientes com meningite criptocócica
	FC + FCZ	Atividade em pacientes com meningite criptocócica
Aspergilose	AMB + FC	Benefício in vivo (modelo animal); poucos dados em humanos
	AMB + azólicos	Nenhum benefício em animais
	AMB+ equinocandinas	Benefício in vivo (modelo animal); poucos dados em humanos
	Triazólicos + equinocandinas	Benefício in vivo (modelo animal); dados em humanos modestos

AMB, Anfotericina B; FC, flucitosina; FCZ, fluconazol.

Os dados mais persuasivos ocorrem no tratamento da criptococose, em que a combinação da anfotericina B e flucitosina demonstraram benefício no tratamento da meningite criptocócica. Os dados são menos persuasivos na combinação da flucitosina com fluconazol ou anfotericina B com triazólicos; entretanto, essas combinações parecem também ser benéficas no tratamento da criptococose.

A candidíase é em geral tratada adequadamente com um único agente antifúngico como anfotericina B, caspofungina ou fluconazol; contudo, a terapia combinada pode ser utilizada em situações específicas. A combinação de anfotericina B e fluconazol demonstrou benefícios no tratamento de candidemia. Da mesma maneira, a combinação de terbinafina com um azólico é promissora no tratamento da candidíase orofaríngea refratária. A flucitosina em combinação com anfotericina B ou triazólicos apresenta efeitos positivos na sobrevivência e no comprometimento tecidual da infecção em modelos animais de candidíase. Atualmente, a terapia combinada para candidíase deve ser reservada a locais individuais específicos, como meningites, endocardites, infecção hepatoesplênica e candidíase recorrente ou refratária à terapia com um único agente.

Embora a situação clínica da aspergilose invasiva torne a terapia de combinação mais atraente, os dados para apoiar a sua utilização são limitados. Atualmente, existe um único ensaio randomizado publicado que avalia a utilização da terapia de combinação no tratamento da aspergilose invasiva. Os resultados de tal estudo fornecem conclusões atraentes, mas não definitivas, de que a terapia de combinação (voriconazol mais anidulafungina) pode ser benéfica no tratamento de aspergilose invasiva. Estudos *in vitro* e em animais têm produzido resultados variáveis. Enquanto a anfotericina B mais a rifampicina parece ser sinergística, os estudos com flucitosina ou rifampicina mais a anfotericina B ou azóis têm sido inconsistentes. Apesar da necessidade desesperada de melhores opções de tratamento para a aspergilose invasiva, há apenas evidência modesta de que a terapia de combinação melhorará o resultado clínico. A terapia combinada deve ser usada com cautela até estarem disponíveis mais dados clínicos.

Mecanismos de Resistência aos Agentes Antifúngicos

Dado o papel proeminente de *Candida* spp. como agente etiológico de micoses invasivas, não é surpresa que a maioria do nosso entendimento sobre os mecanismos de resistência aos agentes antifúngicos seja proveniente de estudos com *C. albicans* e outras espécies de *Candida*. Muito pouco é conhecido sobre os mecanismos de resistência em *Aspergillus* spp. e *C. neoformans*, e quase nenhuma informação sobre os de resistência antifúngica está disponível para outros patógenos fúngicos oportunistas.

Ao contrário dos mecanismos de resistência aos agentes antibacterianos, não há evidência de que os fungos são capazes de destruir ou modificar os agentes antifúngicos como meio de adquirir resistência. Da mesma maneira, os genes de resistência antifúngica não são transmissíveis de célula a célula como ocorre com muitos genes de resistência bacteriana. É aparente, contudo, que bombas de efluxo multimedicamentos, alterações do alvo e acesso reduzido aos alvos medicamentosos são mecanismos importantes de resistência a agentes antifúngicos, da mesma maneira que eles o são aos agentes antibacterianos (Tabela 61-4). Em contraste à rápida emergência e disseminação da resistência multimedicamento, em altos níveis, que ocorrem em bactérias, a resistência antifúngica se desenvolve, em geral, de maneira lenta e envolve a emergência de espécies intrinsecamente resistentes ou uma alteração escalonada, gradual, das estruturas ou funções celulares que resultam na resistência a um agente ao qual tenham sido previamente expostas.



Mecanismos Envolvidos no Desenvolvimento de Resistência aos Agentes Antifúngicos em Fungos Patogênicos

Fungos	Anfotericina B	Flucitosina	Itraconazol	Fluconazol	Equinocandinas
Aspergillus fumigatus			Enzima-alvo alterada, 14- α-demetilase Diminuição do acúmulo de azólico		
Candida albicans	Diminuição do ergosterol Substituição dos esteróis que se ligam aos poliênicos Mascaramento do ergosterol	Perda de atividade de permease Perda da atividade da citosina desaminase Perda da atividade da uracil fosforribosil- transferase		Superexpressão ou mutação da 14-α- demetilase Superexpressão das bombas de efluxo, genes CDR e MDR	Mutação no gene fks1
Candida glabrata	Alteração ou diminuição no conteúdo de ergosterol	Perda da atividade de permease		Superexpressão ou mutação de 14-α- demetilase Superexpressão das bombas de efluxo (genes CgCDR)	Mutação nos genes <i>fks1</i> e/ou <i>fks2</i>
Candida krusei	Alteração ou diminuição no conteúdo de ergosterol			Efluxo ativo Afinidade reduzida à enzima-alvo, 14-α- demetilase	Mutação no gene fks1
Candida lusitaniae	Alteração ou diminuição no conteúdo de ergosterol Produção de esteróis modificados				
Cryptococcus neoformans	Defeitos na síntese de esterol Diminuição de ergosterol Produção de esteróis modificados			Alterações na enzima- alvo Superexpressão da bomba de efluxo MDR	

Poliênicos

A resistência aos poliênicos e à anfotericina B, em particular, permanece incomum apesar da utilização extensiva por mais de 30 anos. A suscetibilidade diminuída à anfotericina B tem sido reportada em isolados de *C. lusitaniae*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii*. Embora a resistência primária possa ser observada, a maioria dos casos de resistência à anfotericina B entre *Candida* spp. é secundária à exposição a anfotericina B durante a terapia. *Aspergillus* spp. são em geral suscetíveis à anfotericina B; entretanto, *A. terreus* é o único que parece ser resistente tanto *in vitro* como *in vivo*. Ainda que a resistência secundária à anfotericina B tenha sido reportada em *Cryptococcus* spp., ela é muito rara.

O mecanismo de resistência à anfotericina B parece ser resultado de alterações qualitativas e quantitativas na célula fúngica. Mutantes de *Candida* spp. e *C. neoformans* resistentes à anfotericina B mostraram ter um conteúdo reduzido de ergosterol, substituição de esteróis que se ligam ao poliênico (ergosterol) por aqueles que se ligam menos (fecosterol), ou mascaramento do ergosterol nas membranas celulares, de maneira que a ligação com os poliênicos é impedida devido a fatores estéricos e termodinâmicos. O mecanismo molecular de resistência à anfotericina B não foi determinado; no entanto, a análise do esterol de cepas resistentes de *Candida* spp. e *C. neoformans* sugere que eles são defeituosos em *ERG2*, *ERG3* ou *ERG6*, genes que codificam as enzimas C-8 esterol isomerase, C-5 esterol dessaturase e C-24 esterol metiltransferase, respectivamente.

Azólicos

A utilização sistemática dos azólicos, em especial o fluconazol, no tratamento e prevenção de infecções fúngicas, aumentou os relatos de resistência emergente a essa classe de agentes antifúngicos. Felizmente, a resistência primária ao fluconazol é rara entre as muitas espécies de *Candida* que causam infecção na corrente sanguínea. Entre as cinco espécies mais comuns de *Candida* isoladas do sangue de pacientes infectados (*C. albicans, C. glabrata, Candida parapsilosis, Candida tropicalis* e *C. krusei*), apenas *C. krusei* é considerada intrinsecamente resistente ao fluconazol. Entre as espécies remanescentes, cerca de 10% de *C. glabrata* exibem resistência primária ao fluconazol, e menos de 2% de *C. albicans, C. parapsilosis, C. tropicalis* são resistentes a este agente. Os novos triazólicos (voriconazol, posaconazol, ravuconazol) são mais potentes que o fluconazol contra *Candida* spp., incluindo atividade contra *C. krusei* e algumas cepas de *Candida* spp. fluconazol-resistentes; contudo, há uma forte correlação entre a atividade do fluconazol e aquela de outros triazólicos, sugerindo algum grau de resistência cruzada dentro da classe.

A resistência primária ao fluconazol também é rara entre isolados clínicos de *C. neoformans*. A resistência secundária tem sido descrita em isolados obtidos em indivíduos com AIDS e com recidiva de meningite criptocócica.

Embora a resistência aos azólicos seja considerada rara entre *Aspergillus* spp., o aumento dela tem sido observado em diversas regiões geográficas, desde 1999. Recentes evidências na Holanda e Dinamarca sugerem a possibilidade de que a resistência de *A. fumigatus* aos azólicos possa ser um efeito colateral do uso de fungicida ambiental. A resistência cruzada entre itraconazol, posaconazol e voriconazol varia de acordo com o mecanismo de resistência.

A resistência aos azólicos em *Candida* spp. pode ser o resultado dos seguintes mecanismos: uma modificação na quantidade ou qualidade das enzimas-alvo, acesso reduzido do medicamento ao alvo, ou alguma combinação desses mecanismos. Assim, os pontos de mutação no gene (*ERG11*) codificando a enzima-alvo, lanosterol 14-α-demetilase, levam a um alvo alterado com afinidade diminuída aos azólicos. A superexpressão de *ERG11* resulta na superprodução da enzima-alvo, criando a necessidade de maiores concentrações do medicamento dentro da célula, para inativar todas as moléculas da enzima-alvo. A indução da expressão dos genes que codificam para as bombas de efluxo resulta em um efluxo ativo dos agentes antifúngicos azólicos para fora da célula. A superexpressão dos genes que codificam **para bombas de efluxo do tipo** *major facilitator* (*MDR*) leva à resistência ao fluconazol; e a superexpressão dos genes que codificam **transportadores que usam o nucleotídeo trifosfato de adenosina como fonte de energia**, (ATP)-binding cassete transporters (*CDR*), leva à resistência a vários azólicos. Tais mecanismos podem atuar individual, sequencial ou simultaneamente, resultando em cepas de *Candida* que exibem, progressivamente, níveis maiores de resistência aos azólicos.

Os mecanismos de resistência aos azólicos em *Aspergillus* spp. são agora bem caracterizados em *A. fumigatus*, mas não em outras espécies de *Aspergillus*. O aumento do efluxo do medicamento e alterações na enzima-alvo 14-α-demetilase parece servir como mecanismo para resistência ao itraconazol, posaconazol e voriconazol entre os isolados de *A. fumigatus*. Mutações específicas no gene *CYP51A* que codifica a enzima-alvo pode resultar na resistência a um, dois ou todos os três triazólicos. Mecanismos de resistência adicionais e ainda não definidos podem também contribuir para a resistência aos azólicos, por isolados de *A. fumigatus*, em pacientes submetidos à terapia com azólicos por um período longo.

Similarmente, a resistência secundária ao fluconazol, entre isolados de *C. neoformans*, tem sido associada à superexpressão das bombas de efluxo MDR e alteração da enzima-alvo. *C. neoformans* também tem mostrado ter bomba de efluxo tipo CDR.

Equinocandinas

Caspofungina, anidulafungina e micafungina demonstram potente atividade fungicida contra *Candida* spp., incluindo cepas azólico-resistentes. Isolados clínicos de *Candida* spp., com suscetibilidade reduzida às equinocandinas, são incomuns, mas cada vez mais reconhecidos entre pacientes submetidos ao tratamento com esses agentes por um longo período. Os esforços para produzir mutantes de *C. albicans* caspofungina-resistentes, no laboratório, têm mostrado que a frequência com que esses mutantes surgem é muito baixa (1 em 10⁸ células), sugerindo um baixo potencial para a emergência de resistência no cenário clínico. A resistência a equinocandinas tem sido igualmente rara entre isolados clínicos de *Aspergillus*; no entanto, mutantes resistentes à equinocandina, derivados de laboratório, têm sido selecionados.

O mecanismo de resistência às equinocandinas, que tem sido caracterizado em cepas de laboratório de *C. albicans* e cepas de origem clínica de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. lusitaniae*, é parte de um complexo enzimático de síntese de glicana alterada, que mostra uma sensibilidade diminuída à inibição por agentes dentro da classe. Essas cepas têm pontos de mutações no gene *fks1* ou *fks2* (*C. glabrata*) que codifica para uma proteína integral de membrana (Fks1p, Fks2p), a qual é a subunidade catalítica do complexo enzimático da síntese da glicana. A mutação do *fks* resulta em cepas resistentes a todas as equinocandinas, mas retém a suscetibilidade aos agentes antifúngicos poliênicos e azólicos. O gene *fks* é também essencial em *Aspergillus* spp. e mutantes *fks1* de *A. fumigatus*, derivados de laboratório, e tem mostrado suscetibilidade diminuída a todas as equinocandinas, *in vitro* e *in vivo*. As cepas de *A. fumigatus* resistentes a equinocandinas mostraram capacidade diminuída para causar infecção, em relação à cepa selvagem, sugerindo que isso pode contribuir para a escassez de cepas clínicas expressando resistência a equinocandinas.

Flucitosina

A resistência primária à flucitosina é incomum entre isolados clínicos de *Candida* spp. e *C. neoformans*. A secundária, contudo, é bem documentada por ocorrer entre *Candida* spp. e *C. neoformans* durante a monoterapia com este agente.

A resistência à flucitosina pode se desenvolver devido à captação diminuída do medicamento (perda da atividade de permease) ou perda da atividade enzimática necessária para converter a flucitosina em 5-FU (citosina desaminase) e ácido

5-fluoruridílico (FUMP pirofosforilase). A uracil fosforribosiltransferase, outra enzima na via de salvação da pirimidina, também é importante na formação do FUMP (5-fluoruracilmonofosfato), e a perda de sua atividade é suficiente para conferir resistência à flucitosina.

Alilaminas

Embora falhas clínicas possam ocorrer durante o tratamento de infecções fúngicas com terbinafina e naftifina, elas não parecem resultar da resistência a esses agentes. Tem sido demonstrado que a bomba de efluxo a multimedicamentos CDR1 pode usar a terbinafina como um substrato, sugerindo que a resistência as alilaminas, mediada por efluxo, é uma possibilidade.

Fatores Clínicos que Contribuem para a Resistência

A terapia antifúngica pode falhar clinicamente, apesar do fato de o medicamento utilizado ser ativo contra o fungo infectante. A interação complexa do hospedeiro, do medicamento e do patógeno fúngico pode ser influenciada por uma ampla variedade de fatores, incluindo o estado imune do hospedeiro, o local e a gravidade da infecção, presença de corpo estranho (p.ex., cateter, enxerto vascular), a atividade do medicamento no local da infecção, a dose e a duração da terapia e o cumprimento do paciente ao regime antifúngico. Deve ser reconhecido que a presença de neutrófilos, o uso de medicamentos imunomoduladores, infecções concomitantes (p.ex., vírus da imunodeficiência humana), procedimentos cirúrgicos, idade e condição nutricional do hospedeiro podem ser mais importantes na determinação do resultado da infecção que a habilidade do agente antifúngico em inibir ou matar o organismo infectante.

Teste de Suscetibilidade aos Antifúngicos

O teste de suscetibilidade *in vitro* dos agentes antifúngicos é feito para determinar a atividade relativa de um ou mais agentes contra o patógeno infectante a fim de auxiliar na escolha da melhor opção para o tratamento da infecção. Dessa maneira, os testes de suscetibilidade antifúngica são realizados pelas mesmas razões que os testes com agentes antibacterianos. Os testes de suscetibilidade antifúngica (1) fornecem uma estimativa confiável da atividade relativa de dois ou mais agentes antifúngicos contra o organismo testado; (2) correlacionam-se com a atividade antifúngica *in vivo* e predizem o provável resultado da terapia; (3) fornecem um meio pelo qual monitoram o desenvolvimento de resistência entre uma população de organismos normalmente suscetíveis; e (4) predizem o potencial terapêutico de agentes recémdesenvolvidos e em avaliação.

Os métodos padronizados para a realização dos testes de suscetibilidade a antifúngicos são reprodutíveis, precisos e disponíveis para utilização em laboratórios clínicos. O teste de suscetibilidade aos antifúngicos é progressivo e apropriadamente utilizado como acessório de rotina no tratamento de infecções fúngicas. Diretrizes para a utilização do teste antifúngico como complemento a outros estudos laboratoriais têm sido desenvolvidas. A aplicação seletiva do teste de suscetibilidade a antifúngicos, agrupada com a identificação mais ampla dos fungos em nível de espécies, é especialmente útil na dificuldade em administrar as infecções fúngicas. Deve-se ter em mente, contudo, que a suscetibilidade, *in vitro*, de um organismo infectante a um agente antimicrobiano é apenas um dos vários fatores que podem influenciar na probabilidade de que a terapia para uma infecção será bem-sucedida (veja Fatores Clínicos que Contribuem para a Resistência).

Referências Bibliográficas

Gubbins PO, Anaissie EJ. Antifungal therapy. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. ed 2 New York: Churchill Livingstone; 2009.

Howard SJ, Arendrup MC. Acquired antifungal drug resistance in *Aspergillus fumigatus*: epidemiology and detection. *Med Mycol*. 2011;49(Suppl 1):S90–S95.

Johnson EM, Espinel-Ingroff AV, Pfaller MA. Susceptibility test methods: yeasts and filamentous fungi. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Johnson MD, MacDougall C, Ostrosky-Zeichner L, et al. Combination antifungal therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:693–715. Kanafani ZA, Perfect JR. Resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. *Clin Infect Dis*. 2008;46:120–128.

Perlin DS. Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. Drug Resist Updates. 2007;10:121–130.

Pfaller MA. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. Am J Med. 2012;125:S3–S13.

Micoses Superficiais e Cutâneas

Darrel, um estudante de medicina de 24 anos, gosta muito de seu novo filhote de buldogue, Delbert. Ele adquiriu Delbert recentemente de um canil local. Darrel dava beijos frequentes no focinho de Delbert, que amava isso, pois sabia que, logo em seguida, viria uma brincadeira. Após aproximadamente 3 meses da posse orgulhosa e de beijos no filhotinho, Darrel percebeu que seu bigode começou a coçar e o lábio superior a inchar. Em 1 semana, seu lábio superior estava inchado e inflamado, e pequenas áreas pustulares se tornaram aparentes entre os pelos esparsos de seu bigode. Alterações similares também se tornaram aparentes no focinho de Delbert. Isso preocupou Darrel, que prontamente levou Delbert ao veterinário. O veterinário deu uma olhada nos dois, escreveu uma prescrição para Delbert, e disse a Darrel que ele deveria fazer uma visita ao dermatologista.

- 1. Qual foi a provável causa da doença de Darrell/Delbert? Seja específico.
- 2. Como você faria um diagnóstico?
- 3. Como você trataria esta infecção?
- 4. Quem transmitiu o quê a quem?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Dermatófitos

Palavras-gatilho

Tinea, preparação de KOH, *ringworm*, azóis, terbinafina, circular, lesão descamativa com região central limpa e perda de pilosidade

Biologia, Virulência e Doença

- Inclui fungos filamentosos dos gêneros Trichophyton, Epidermophyton e Microsporum
- Queratinofílicos e queratinolíticos; capazes de invadir e quebrar a pele, cabelo e unhas
- Em infecções da pele, cabelo e unhas, apenas as camadas mais externas queratinizadas invadidas
- Várias formas de dermatofitoses (tinhas ou ringworm) classificadas de acordo com localização anatômica ou estrutura envolvidas
- Sinais e sintomas clínicos são variáveis

Epidemiologia

- Classificados em três categorias com base no habitat natural: geofílicos, zoofílicos e antropofílicos
- Geofílicos: vivem no solo, patógenos ocasionais de ambos animais e seres humanos
- Zoofílicos: parasitam o pelo e a pele dos animais, mas podem ser transmitidos aos humanos
- Antropofílica: infectam os humanos, podem ser transmitidos diretamente ou indiretamente, de pessoa para pessoa
- Ocorrem em todo o mundo, especialmente em regiões tropicais e subtropicais

Diagnóstico

- Demonstração de hifas fúngicas por microscopia direta da pele, amostras de cabelo ou unhas
- Isolamento de organismos em cultura

Tratamento, Prevenção e Controle

- Infecções localizadas que não envolvem o cabelo ou unhas podem ser tratadas eficazmente com antifúngicos tópicos (azóis, terbinafina, haloprogina)
- Todos os outros exigem terapia oral (griseofulvina, itraconazol, fluconazol, terbinafina)

As infecções fúngicas da pele e suas estruturas (pelos, unhas) são extremamente comuns. Essas infecções são na maioria das vezes classificadas pelas estruturas que o fungo coloniza ou invade:

1. Micoses superficiais, limitadas às camadas mais externas da pele e dos pelos.

- 2. Micoses cutâneas, infecções que envolvem as camadas mais profundas da epiderme e seus anexos, os pelos e as unhas.
- 3. **Micoses subcutâneas**, envolvendo a derme, tecidos subcutâneos, músculo e tecido conjuntivo. As micoses subcutâneas serão discutidas separadamente no Capítulo 63. Este capítulo abordará as micoses superficiais e cutâneas.

Micoses Superficiais

Os agentes das micoses superficiais são fungos que colonizam as camadas queratinizadas da pele, dos pelos e das unhas. As infecções causadas por estes organismos induzem pouca ou nenhuma resposta imune do hospedeiro, não são destrutivas e, em consequência, são assintomáticas. São, em geral, apenas de interesse estético e fáceis de diagnosticar e tratar.

Pitiríase (Tinea) Versicolor

A pitiríase versicolor é uma infecção fúngica superficial comum que ocorre em todo o mundo. Em certos ambientes tropicais, ela pode afetar até 60% da população. É causada por espécies de leveduras lipofílicas do complexo *Malassezia furfur*: *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. obtusa*, *M. dermatis*, *M. japonica*, e *M. yamatoensis*. Em relatórios clínicos de rotina, a referência a esses organismos como membros do complexo *M. furfur* é geralmente suficiente.

Morfologia

Quando visualizada nas escamações da pele, membros do complexo *M. furfur* aparecem como grupos de células semelhantes a leveduras, com paredes espessas, esféricas ou ovais, com 3 a 8 µm de diâmetro (Fig. 62-1). As células leveduriformes podem estar misturadas com hifas curtas, ocasionalmente ramificadas, que tendem a se orientar de uma extremidade a outra. As células leveduriformes representam fialoconídios e mostram um broto polar com um "lábio" ou colarete ao redor do ponto de iniciação do broto na célula-mãe (Fig. 62-2). Em cultura em meio padrão, contendo ou coberto por azeite de oliva, espécies do complexo *M. furfur* crescem como colônias leveduriformes, de cor creme, compostas de células leveduriformes com brotamento; as hifas são eventualmente produzidas.

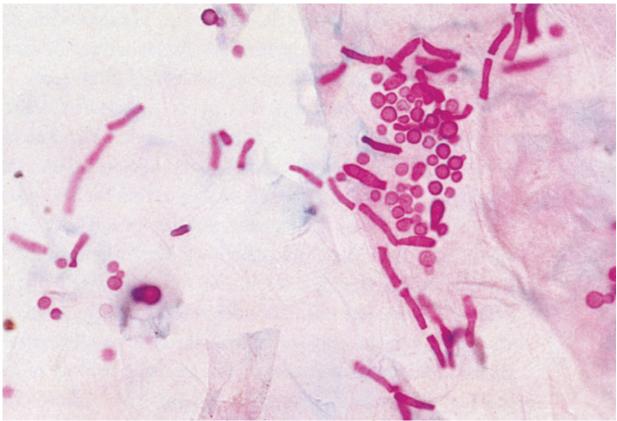


FIGURA 62-1 Pitiríase versicolor. Escamas de pele coradas com PAS mostrando hifas curtas e curvas e blastoconídios em cachos (ampliadas 100 vezes). (De Connor DH, Schwartz DA: Pathology of infectious diseases, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

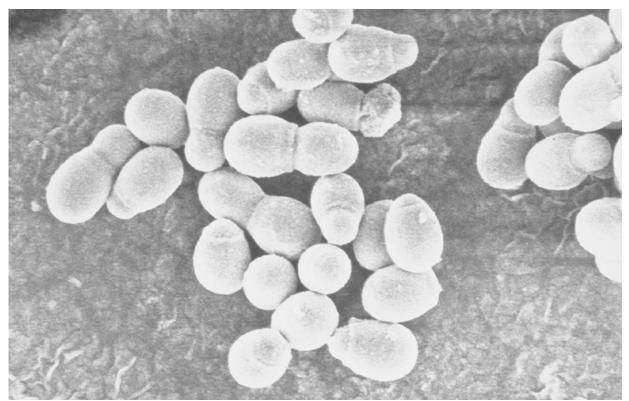


FIGURA 62-2 Micrografia por varredura eletrônica de *Malassezia furfur* demonstrando o colarete semelhante a um lábio ao redor do ponto do início do broto na célula-mãe. (Cortesia de S.A. Messer.)

Epidemiologia

A pitiríase versicolor é uma doença de pessoas saudáveis que ocorre no mundo todo, mas é mais prevalente em regiões tropicais e subtropicais. Adultos jovens são mais comumente afetados. A *M. furfur* e outros membros do complexo da espécie não são encontrados como saprófitas na natureza, e a pitiríase versicolor não tem sido demonstrada em animais. A infecção humana parece resultar da transferência direta ou indireta de material queratínico de uma pessoa a outra.

Síndromes Clínicas

As lesões da pitiríase versicolor são pequenas máculas hipo ou hiperpigmentadas. A parte superior do tronco, braços, tórax, ombros, face e pescoço são mais frequentemente envolvidas, mas qualquer parte do corpo pode ser afetada (Fig. 62-3). As lesões são irregulares, com manchas despigmentadas bem delimitadas, que podem confluir e ser cobertas por uma escama fina. Como espécies do complexo *M. furfur* tendem a interferir na produção de melanina, as lesões são hipopigmentadas em pessoas de pele escura. Em pessoas de pele clara, as lesões são rosadas a castanho-claras e se tornam mais evidentes por não adquirirem bronzeamento após exposição ao sol. Pouca ou nenhuma reação ocorre no hospedeiro, e as lesões são assintomáticas, com exceção de prurido brando em casos graves. O complexo da *M. furfur* também tem sido associado a foliculite, dacriocistite obstrutiva, infecções sistêmicas em pacientes que receberam infusões lipídicas intravenosas e dermatite seborreica, especialmente em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS).



FIGURA 62-3 Pitiríase versicolor. Manchas hiperpigmentadas múltiplas, castanho-claras, no tórax e ombros. (De Gawkrodger D, Ardern-Jones M: Dermatology: an illustrated colour text. Edinburgh, 2012, Churchill-Livingstone, p 42, Fig. 2.)

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial da pitiríase versicolor é feito pela visualização direta dos elementos fúngicos (hifas curtas e curvas e blastoconídios em cachos) no exame microscópico das escamas epidérmicas em KOH a 10% com ou sem calcoflúor. Os organismos são usualmente numerosos e podem ser visualizados por coloração com H&E ou PAS (Fig. 62-1). As lesões também fluorescem com uma cor amarelada em exposição à lâmpada de Wood.

Apesar de normalmente não necessária para o estabelecimento do diagnóstico, a cultura pode ser realizada utilizando-se meio micológico sintético suplementado com óleo de oliva como fonte de lipídio. O crescimento de colônias leveduriformes

aparece após incubação a 30°C por 5 a 7 dias. Microscopicamente, as colônias são compostas de células leveduriformes com brotamento e hifas ocasionais.

Tratamento

Embora a cura espontânea tenha sido reportada, a doença é na maioria das vezes crônica e persistente. O tratamento consiste no uso tópico de azóis ou xampu com sulfeto de selênio. Para infecção mais generalizada, o cetoconazol ou itraconazol por via oral podem ser utilizados.

Tinea Nigra

A tinea nigra é uma feo-hifomicose superficial causada pelo fungo negro Hortaea werneckii (antigamente Exophiala werneckii).

Morfologia

Microscopicamente, *H. werneckii* aparece como uma hifa dematiácea, septada, frequentemente ramificada, com 1,5 a 3,0 µm de largura. Artroconídios e células alongadas com brotamento também estão presentes (Fig. 62-4). *H. werneckii* também cresce em cultura em meio micológico padrão a 25°C, na qual um fungo filamentoso negro é que produz aneloconídios (conídios que possuem anelídeos ou anéis), que muitas vezes deslizam para os lados do conidióforo.

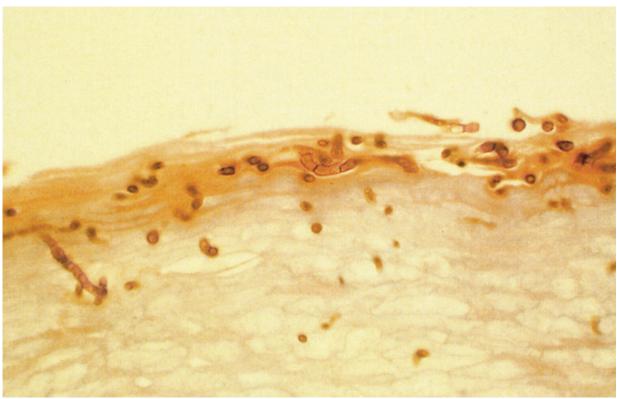


FIGURA 62-4 Tinea nigra. Hifas dematiáceas de Hortaea werneckii (H&E, 100 ×). (De Connor DH, Schwartz DA: Pathology of infectious diseases, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Epidemiologia

A tinea nigra é uma condição tropical ou subtropical. É contraída provavelmente por inoculação traumática do fungo nas camadas superficiais da epiderme. É mais prevalente na África, Ásia e Américas Central e do Sul. As crianças e adultos jovens são mais frequentemente afetados, com maior incidência em mulheres.

Síndromes Clínicas

A tinea nigra aparece como uma mácula isolada, irregular, pigmentada (castanha a negra), quase sempre na palma das mãos ou planta dos pés (Fig. 62-5). Não há descamação ou invasão dos folículos pilosos, e a infecção não é contagiosa. Devido à sua localização superficial, há pouco ou nenhum desconforto, ou reação do hospedeiro. Como a lesão pode parecer grosseiramente um melanoma maligno, a biópsia ou excisão local podem ser consideradas. Tais procedimentos invasivos podem ser evitados por um simples exame microscópico das escamas de pele da área afetada.



FIGURA 62-5 Tinea nigra. Máculas escuras pigmentadas com bordas irregulares na palma da mão.(De Bolognia J, Jorizzo JL, Schaffer JV: Dermatology, London, 2012, Saunders, Fig. 77-2; cortesia de Frank Samarin, MD.)

Diagnóstico Laboratorial

A tinea nigra é facilmente diagnosticada por exame microscópico das escamas de pele em KOH a 10% ou 20%. As hifas pigmentadas e formas de levedura são confinadas às camadas externas do extrato córneo e facilmente detectadas em cortes corados por H&E (Fig. 62-4 e Quadro 60-1). Uma vez detectados os elementos fúngicos, as escamações de pele devem ser semeadas em meio micológico com antibióticos. Uma colônia leveduriforme dematiácea deve aparecer dentro de 3 semanas, tornando-se aveludada com o tempo. O exame microscópico revela células leveduriformes cilíndricas e bicelulares e, dependendo da idade da colônia, hifas toruloides.

Tratamento

A infecção responde bem à terapia tópica, incluindo pomada de Whitfield, cremes com azóis e terbinafina.

Piedra Branca

A piedra branca é uma infecção superficial do pelo causada por fungos leveduriformes do gênero *Trichosporon*: *T. ovoides* (responsável pela piedra branca do cabelo do couro cabeludo), *T. inkin* (responsável pela maioria dos casos de piedra branca púbico), e *T. asahii*.

Morfologia

O exame microscópico revela hifas, artroconídios (células retangulares resultantes da fragmentação das hifas) e blastoconídios (brotamento das leveduras).

Epidemiologia

Esta condição ocorre em regiões tropicais e subtropicais e é relacionada com a falta de higiene.

Síndromes Clínicas

A *piedra branca* afeta os pelos da região inguinal e axilas. O fungo fica ao redor da haste do pelo e forma um nódulo branco a castanho ao longo do pelo. Os nódulos são moles e pastosos e podem ser facilmente removidos deslocando-os com o polegar e o dedo indicador, em direção à ponta do pelo. A infecção não danifica a haste do pelo.

Diagnóstico Laboratorial

Quando o exame microscópico revelar hifas, artroconídios e/ou células de levedura com brotamento, o pelo infectado deve ser semeado em meio micológico sem ciclo-heximida (a ciclo-heximida inibirá *Trichosporon* spp.). *Trichosporon* spp. formarão colônias de coloração creme, secas e enrugadas, entre 48 e 72 horas de incubação em temperatura ambiente. As várias espécies de *Trichosporon* podem ser identificadas da mesma maneira que outros isolados de leveduras. A assimilação de açúcares, de nitrato de potássio (KNO₃) (negativa), a produção de urease (positiva) e a morfologia em ágar-fubá (artroconídios e blastoconídios estão presentes) devem ser determinadas.

Tratamento

O tratamento pode ser realizado com a utilização de azóis tópicos; contudo, a melhora da higiene e a depilação dos pelos infectados também são eficazes e em geral refutam a necessidade de tratamento clínico.

Piedra Preta

Outra condição que afeta os pelos, principalmente do couro cabeludo, é a pedra preta, ou *piedra preta*. O agente causal da *piedra preta* é *Piedraia hortae*.

Morfologia

O organismo cresce como fungo filamentoso pigmentado (castanho a negro-avermelhado). Durante o crescimento da cultura, ascos contendo ascósporos fusiformes são formados dentro de estruturas especializadas. Os ascos e os ascósporos são também produzidos dentro da massa de hifas endurecida que fica ao redor do pelo.

Epidemiologia

A piedra preta não é comum e tem sido reportada em áreas tropicais da América Latina e África Central. Parece que a infecção está relacionada com a falta de higiene.

Síndromes Clínicas

A *piedra preta* se apresenta como nódulos pequenos e escuros ao redor da haste do pelo. É assintomática e geralmente envolve os pelos do couro cabeludo. A massa de hifas é presa por uma substância semelhante a um cimento e contém ascos e ascósporos, a fase sexual do fungo.

Diagnóstico Laboratorial

O exame do nódulo revela hifas ramificadas e pigmentadas presas por uma substância semelhante a cimento. *P. hortae* pode ser cultivada em meio micológico de rotina. O crescimento muito lento pode ser observado a 25°C e pode iniciar como uma colônia leveduriforme, tornando-se mais tarde aveludada enquanto as hifas se desenvolvem. Ascos são observados microscopicamente, em geral atingindo 4 a 30 µm e contendo até oito ascósporos.

Tratamento

O tratamento da piedra preta é facilmente realizado por um corte de cabelo e lavagens regulares apropriadas.

Micoses Cutâneas

As micoses cutâneas incluem infecções causadas por fungos dermatofíticos (dermatofitoses) e fungos não dermatofíticos (dermatomicoses) (Tabela 62-1). Devido à grande importância dos dermatófitos como agentes etiológicos das micoses cutâneas, a maior parte desta seção tratará destes fungos. Os fungos não dermatofíticos serão discutidos, considerando-se seus papéis nas onicomicoses. As infecções superficiais e cutâneas causadas por *Candida* spp. serão discutidas no Capítulo 65.



Agentes Comuns e Incomuns de Dermatomicoses e Dermatofitoses Superficiais e Cutâneas

	Tipo de Infecção									
Fungo	TP	TCO	TCR	TCA	TBA	PVR	o	TN	PP	PB
Dermatofíticos										
Trichophyton rubrum	Х	Х	Х				Х			
Complexo T. mentagrophytes	Х	Х	Х	Х			Х			
T. tonsurans		Х		Х			Х			
T. verrucosum		Χ		X	X					
T. equinum				X						
T. violaceum				Х						
T. schoenleinii				Х						
T. megnini							Х			
Epidermophyton floccosum	Х		Х				Х			
Microsporum canis		Х		Х						
M. audouinii				Х						
Não dermatofíticos										
Scopulariopsis brevicaulis							Х			
Neoscytalidium spp. e Scytalidium spp.	Х						Х			
Malassezia spp.						Χ				
Candida albicans	Х		Х				Х			
Aspergillus terreus							Х			
Sarocladium (Acremonium) spp.							Х			
Fusarium spp.							Х			
Trichosporon spp.										Х
Piedraia hortae									Х	
Hortae werneckii								Х		

PP, piedra preta; O, onicomicose; TBA; tinea barbae; TCA, tinea capitis; TCO, tinea corporis; TCR, tinea cruris; TN, tinea nigra; TP, tinea pedis; PVR, pitiríase versicolor; PB, piedra branca; X, agentes etiológicos de dermatomicoses ou dermatoficoses.

Dermatofitoses (Casos Clínicos 62-1 e 62-2)

O termo **dermatofitose** se refere a um complexo de doenças causadas por quaisquer das várias espécies de fungos filamentosos taxonomicamente relacionados dos gêneros *Trichophyton, Microsporum* e *Epidermophyton* (Tabelas 62-1 a 62-3). Esses fungos são conhecidos coletivamente como **dermatófitos** e têm habilidade em causar doenças em humanos e/ou animais. Todos têm em comum a habilidade de invadir a pele, pelos ou unhas. Em cada caso, tais fungos são queratinofílicos e queratinolíticos, sendo capazes de destruir as superfícies queratinosas dessas estruturas. Nas infecções de pele, os dermatófitos invadem apenas a camada superior e mais externa da epiderme, o extrato córneo. A penetração abaixo da camada granular da epiderme é rara. O mesmo ocorre com os pelos e unhas, que sendo parte da pele, têm somente as camadas queratinizadas invadidas. As várias formas de dermatofitoses são citadas como tineas ou *ringworm*. Clinicamente, as *tineas* são classificadas de acordo com o local anatômico ou a estrutura afetada: (1) *tinea capitis*, do couro cabeludo, sobrancelhas e cílios; (2) *tinea barbae*; (3) *tinea corporis* da pele glabra ou macia; (4) *tinea cruris*, da região inguinal; (5) *tinea pedis*, do pé, e (6) *tinea unguium*, da unha (também conhecida como **onicomicose**). Os sinais e sintomas clínicos das dermatofitoses variam de acordo com os agentes etiológicos, a reação do hospedeiro e o local da infecção.



Aspectos Característicos dos Dermatófitos in Vitro e in Vivo

Gênero	In	Pelo in Vivo		
	Macroconídios Microconídios I		Invasão	Fluorescência*
Epidermophyton	Paredes lisas, agrupados em cachos de dois ou três	Ausentes	NA	NA
Microsporum	Numerosos, grandes, parede espessa e rugosa [†]	Raros	Ectótrix	+/_‡
Trichophyton	Raros, parede lisa e delgada	Numerosos, esféricos, em forma de gotas ou pinos [§]	Endótrix	+/-¶

NA, Não aplicável.

^{*} Fluorescência com lâmpada de Wood.

[†] Exceto M. audouinii.

[‡] *M. gypseum* não fluorescente.

[§] Exceto T. schoenleinii.

II T. verrucosum, ectótrix; T. schoenleinii, fávico.

[¶] T. schoenleinii é fluorescente.



Classificação dos Dermatófitos de Acordo com o Nicho Ecológico

Nicho Ecológico	Espécies	Principais Hospedeiros	Distribuição Geográfica	Prevalência
Antropofílico	Epidermophyton floccosum		Mundial	Comum
	Microsporum audouinii		Mundial	Comum
	M. ferrugineum		África, Ásia	Endêmica
	Trichophyton concentricum		Ásia, Ilhas do Pacífico	Endêmica Rara
	T. megnini		Europa, África	Endêmica
	T. mentagrophytes var. interdigitale		Mundial	Comum
	T. rubrum		Mundial	Comum
	T. schoenleinii		Europa, África	Endêmica
	T. soudanense		África	Endêmica
	T. tonsurans		Mundial	Comum
	T. violaceum		Europa, África, Ásia	Comum
Zoofílico	M. canis	Gato, cão, cavalo	Mundial	Comum
	M. gallinae	Galinha	Mundial	Rara
	M. nanum	Suíno	Mundial	Rara
	M. persicolor	Rato silvestre	Europa, EUA	Rara
	T. equinum	Cavalo	Mundial	Rara
	T. mentagrophytes var. mentagrophytes	Roedor	Mundial	Comum
	T. mentagrophytes var. erinacei	Ouriço	Europa, Nova Zelândia, África	Ocasional
	T. mentagrophytes var. quinckeanum	Camundongo	Mundial	Rara
	T. simii	Macaco	Índia	Ocasional
	T. verrucosum	Vaca	Mundial	Comum
C (/1°	Complexo M. gypseum		Mundial	Ocasional
Geofílico	T. vanbreuseghemii		Mundial	Rara

De Hiruma M, Yamaguchi H: Dermatophytes. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, New York, 2003, Churchill Livingstone.



Caso Clínico 62-1 Dermatofitose em Hospedeiro Imunocomprometido

Squeo et al. (*J Am Acad Dermatol* 39:379–380, 1998) descrevem o caso de um paciente de 55 anos submetido a transplante renal, com onicomicose e *tinea pedis* crônica, que apresentava nódulos dolorosos em seu calcanhar esquerdo. Ele, então, desenvolveu pápulas e nódulos no pé direito e na panturrilha. A biópsia, positiva para ácido periódico de Schiff (PAS, do inglês, *periodic acid-Schiff*), demonstrou a presença de células arredondadas de paredes espessas com 2 a 6 µm de diâmetro, na derme. Na cultura da biópsia de pele cresceu *Trichophyton rubrum*. *T. rubrum* tem sido descrito como patógeno invasivo em pacientes imunocomprometidos. A apresentação clínica, a histopatologia e o crescimento inicial da cultura fúngica sugeriram tratar-se de *Blastomyces dermatitidis* no diagnóstico diferencial antes da identificação final de *T. rubrum*.



Caso Clínico 62-2 Tinea capitis em uma Mulher Adulta

Martin e Elewski (*J Am Acad Dermatol* 49:S177–S179, 2003) descreveram o caso de uma mulher de 87 anos com histórico de 2 anos de erupção pruriginosa e dolorosa no couro cabeludo e queda de cabelo. O tratamento prévio para essa condição incluía numerosos esquemas de antibióticos sistêmicos e prednisona sem sucesso. O histórico da paciente indicava que ela tinha adquirido recentemente vários gatos e os mantinha dentro de casa. No exame físico, havia inúmeras pústulas por todo o couro cabeludo, com eritema difuso e descamação estendendo-se até o pescoço. Havia cabelo extremamente escasso e linfadenopatia cervical posterior proeminente. Ela não tinha alterações ungueais. O exame do couro cabeludo por lâmpada de Wood foi negativo. Amostra de biópsia de pele e cultura para fungos,

bactérias e vírus forma realizadas. Na cultura bacteriana cresceram raras *Enterococcus* spp., enquanto a cultura viral mostrou-se negativa. A amostra de biópsia do couro cabeludo revelou infecção por um dermatófito endótrix. Na cultura fúngica, cresceu *Trichophyton tonsurans*. A paciente foi tratada com griseofulvina e xampu Selsun. No retorno, após 2 semanas de tratamento, ela demonstrou crescimento de cabelo no local afetado e resolução de sua erupção postular. Devido à resposta clínica e ao aparecimento, no exame de cultura, de *T. tonsurans*, o tratamento com griseofulvina foi mantido por 8 semanas. O cabelo voltou a crescer normalmente sem alopecia permanente. Adultos com alopecia exigem avaliação para *tinea capitis*, incluindo cultura para fungos.

Morfologia

Cada gênero de fungo filamentoso dermatofítico é caracterizado por um padrão específico de crescimento em cultura e pela produção de macroconídios e microconídios (Tabela 62-2). Identificações adicionais da espécie requerem considerações sobre a morfologia da colônia, produção de esporos e requerimentos nutricionais *in vitro*.

Microscopicamente, o gênero *Microsporum* é identificado pela observação de seus macroconídios, enquanto os microconídios são estruturas características do gênero *Trichophyton* (Tabela 62-2). *Epidermophyton floccosum* não produz microconídios, porém seus macroconídios de parede lisa que nascem em cachos de dois ou três são bastante característicos (Fig. 62-6). *Microsporum canis* produz macroconídios característicos, grandes, multicelulares (cinco a oito células por conídio), com parede espessa e rugosa (Fig. 62-7). *Trichophyton rubrum* produz microconídios em forma de gotas ou de pino que nascem ao longo das hifas (Fig. 62-8), enquanto *Trichophyton mentagrophytes* produz tanto macroconídios únicos em forma de charuto como cachos de microconídios esféricos (Fig. 62-9). *T. tonsurans* produz microconídios de forma e tamanho variados, com conídios esféricos relativamente grandes, muitas vezes localizados paralelamente ao lado de conídios pequenos e outros microconídios de vários tamanhos e formas (Fig. 62-10).

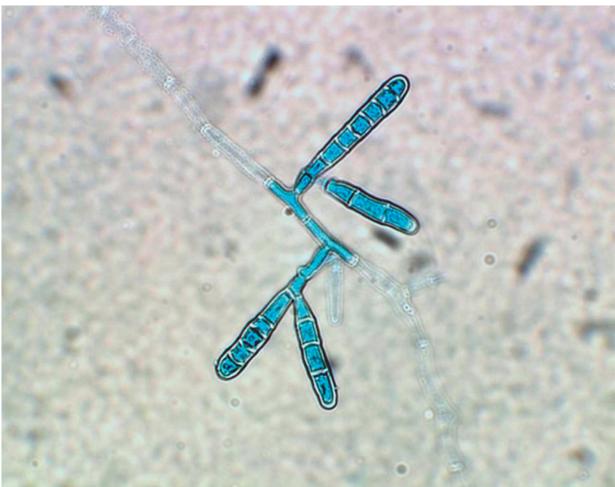


FIGURA 62-6 Epidermophyton floccosum. Em lactofenol azul-algodão mostrando macroconídios de paredes lisas



FIGURA 62-7 Microsporum canis. Em lactofenol azul-algodão mostrando macroconídios (seta preta) e microconídios (seta vermelha) de parede rugosa.

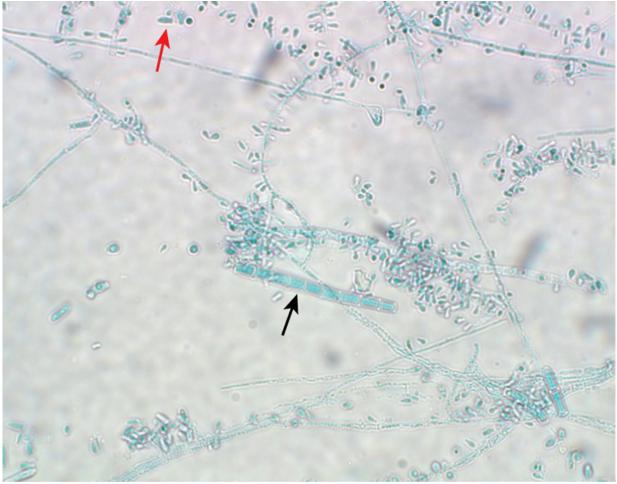


FIGURA 62-8 Trichophyton rubrum. Em lactofenol azul-algodão mostrando macroconídio multicelular (seta preta) e microconídios em forma de gota e pino (seta vermelha).

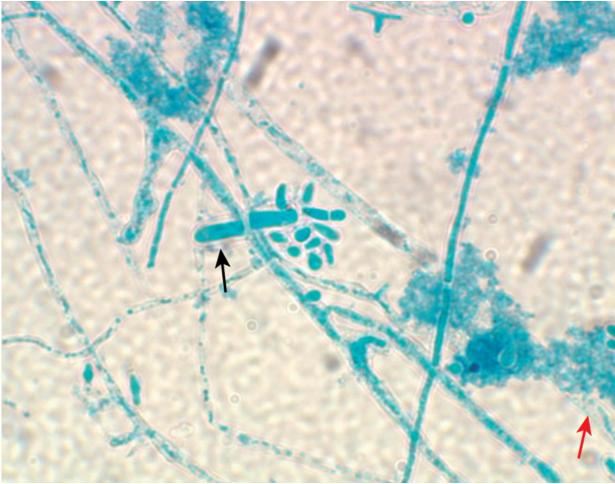


FIGURA 62-9 Trichophyton mentagrophytes. Em lactofenol azul-algodão mostrando macroconídios em forma de charuto (seta preta) e microconídios agrupados em cachos (seta vermelha).

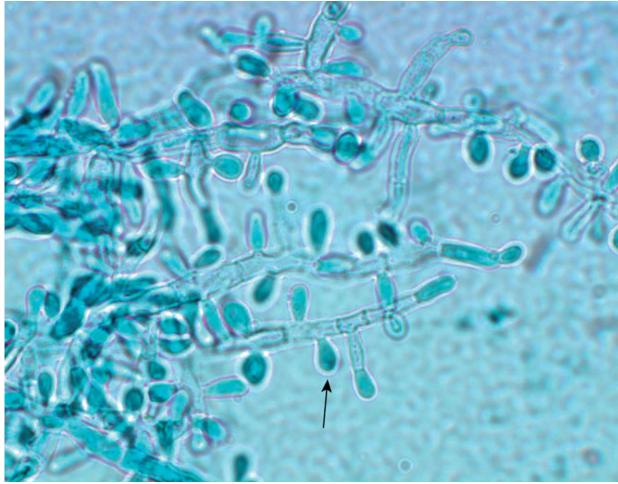
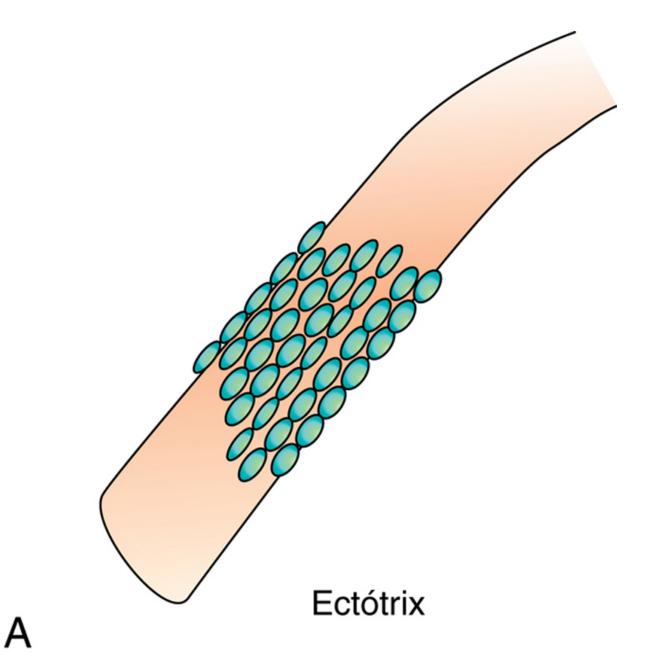
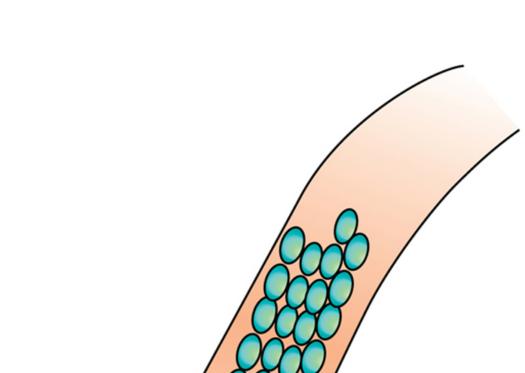
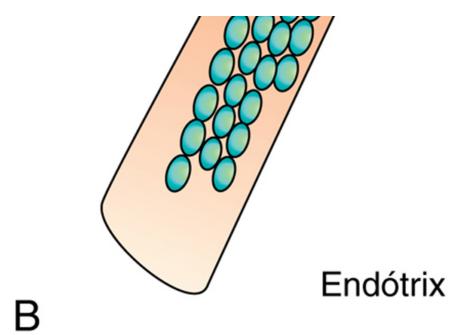


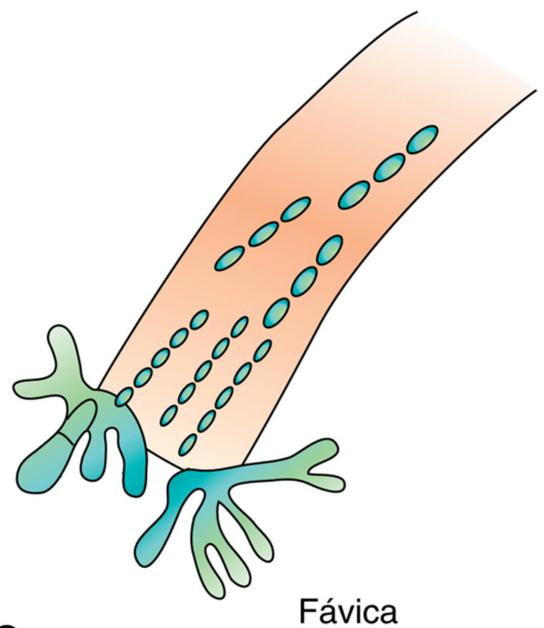
FIGURA 62-10 Trichophyton tonsurans. Em lactofenol azul-algodão mostrando microconídios (seta preta).

Em biópsias cutâneas, todos os dermatófitos são morfologicamente similares e aparecem como hifas septadas, hialinas, artroconídios em cadeia ou dissociados que invadem o extrato córneo, folículos capilares e pelos. Quando o pelo é infectado, o padrão de invasão fúngica pode ser **ectótrix**, **endótrix** ou **fávico**, dependendo da espécie dermatofítica (Fig. 62-11). Hifas septadas podem ser vistas dentro da haste do pelo em todos os três padrões. No padrão **ectótrix**, os **artroconídios** são formados por fora do pelo (Figs. 62-11 e 62-12); no padrão **endótrix**, os artroconídios são formados no interior do pelo (Fig. 62-11); e no padrão **fávico**, as hifas, os artroconídios e espaços vazios lembrando bolhas de ar (padrão "favo de mel") são formados dentro do pelo (Fig. 62-11). Os dermatófitos podem geralmente ser vistos por coloração H&E; contudo, são mais bem visualizados com colorações específicas para fungos, como GMS e PAS (Fig. 62-12 e Cap. 60).









С

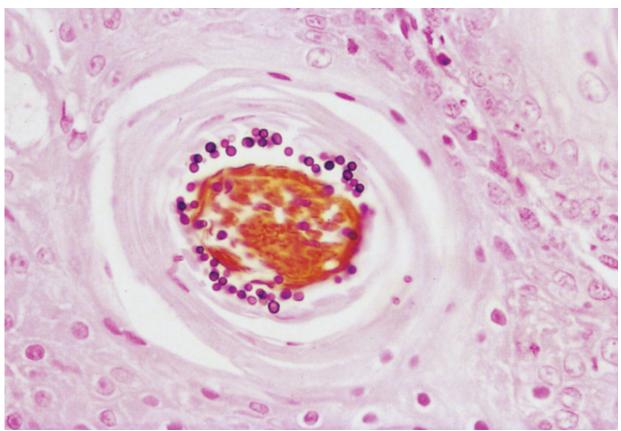


FIGURA 62-12 Artroconídios ao redor da haste do pelo. Infecção com padrão ectótrix do pelo causada por *Microsporum canis* (GMS-H&E, 160 ×). (De Connor DH, Schwartz DA: *Pathology of infectious diseases*, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Ecologia e Epidemiologia

Os dermatófitos podem ser classificados em três categorias, baseadas em seu *habitat* natural (Tabela 62-3): (1) geofílicos; (2) zoofílicos; e (3) antropofílicos. Os dermatófitos geofílicos vivem no solo e são patógenos ocasionais de animais e humanos. Os dermatófitos zoofílicos normalmente parasitam o pelo e a pele de animais, mas podem ser transmitidos aos humanos. Na maioria das vezes, os dermatófitos antropofílicos infectam os humanos e podem ser transmitidos direta ou indiretamente de pessoa a pessoa. Essa classificação é bastante útil no prognóstico e enfatiza a importância da identificação do agente etiológico das dermatofitoses. As espécies de dermatófitos que são consideradas antropofílicas tendem a causar infecções relativamente não inflamatórias, crônicas e difíceis de curar. Em contraste, os dermatófitos zoofílicos e geofílicos tendem a provocar uma intensa reação no hospedeiro, causando lesões altamente inflamatórias e respondendo bem à terapia. Em alguns casos, tais infecções curam-se espontaneamente.

Os dermatófitos estão distribuídos mundialmente (Tabela 62-3), e a infecção pode ser adquirida pela transferência de artroconídios ou hifas, ou material queratínico contendo esses elementos, de um hospedeiro infectado a outro hospedeiro não infectado suscetível. Os dermatófitos podem permanecer viáveis em escamas de pele descamadas ou em pelos por longos períodos, e a infecção pode ser tanto por contato direto quanto indireto, via fômites. Indivíduos de ambos os sexos e de todas as idades são suscetíveis às dermatofitoses; contudo, tinea capitis é mais comum em crianças pré-púberes, e tinea cruris e tinea pedis são sobretudo doenças de adultos do sexo masculino. Embora as dermatofitoses ocorram em todo o mundo, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, as espécies individuais de dermatófitos podem variar em suas distribuições geográficas e em sua virulência para humanos (Tabela 62-3). Por exemplo, Trichophyton concentricum, agente da tinea imbricata, é confinado às ilhas do Pacífico Sul e Ásia, enquanto T. tonsurans substituiu Microsporum audouinii como principal agente de tinea capitis nos Estados Unidos. As infecções causadas por dermatófitos são em geral endêmicas, porém podem assumir proporções epidêmicas em determinadas situações (p.ex., tinea capitis em escolares). Em escala mundial, T. rubrum e T. mentagrophytes são responsáveis por 80% a 90% de todas as dermatofitoses.

Síndromes Clínicas

As dermatofitoses manifestam uma ampla variedade de apresentações clínicas, que podem ser afetadas por fatores como as espécies de dermatófitos, a quantidade do inóculo, o local da infecção e a condição imune do hospedeiro. Qualquer manifestação da doença pode resultar de várias espécies diferentes de dermatófitos, como mostrado na Tabela 62-1.

O padrão clássico das dermatofitoses é o *ringworm*, ou seja, um anel de escamação inflamatória com diminuição da inflamação em direção ao centro da lesão. As *tineas* de áreas cobertas por pelos se apresentam, muitas vezes, como manchas circulares elevadas de alopecia com eritema e escamação (Fig. 62-13) ou como pápulas, pústulas e vesículas e quérions (inflamação grave envolvendo a haste do pelo) mais difusamente espalhados (Fig. 62-14). Os pelos infectados por determinadas espécies (p.ex., *M. canis*, *M. audouinii*, *Trichophyton schoenleinii*) muitas vezes fluorescem em tonalidade amarelo-esverdeada quando expostos à lâmpada de Wood (Tabela 62-2). As infecções da pele lisa normalmente se apresentam como manchas eritematosas e escamosas que se expandem em um padrão centrípeto com clareamento central. As dermatofitoses do pé e da mão podem se tornar, muitas vezes, complicadas por onicomicoses (Fig. 62-15), na qual a placa ungueal é invadida e destruída por fungos. A onicomicose (*tinea unguium*) é causada por uma variedade de dermatófitos (Tabela 62-1) e estima-se que afete aproximadamente 3% da população na maioria dos países temperados. Essa doença é observada na maioria das vezes em adultos, sendo mais comum as unhas dos pés serem mais afetadas que as das mãos. A infecção é usualmente crônica, e as unhas tornam-se grossas, descoloridas, elevadas, friáveis e deformadas (Fig. 62-15). *T. rubrum* é o agente etiológico mais comum na maioria dos países. Uma forma rapidamente progressiva de onicomicose que se origina na borda proximal da unha e envolve a superfície e a parte interna da unha é vista em pacientes com AIDS.

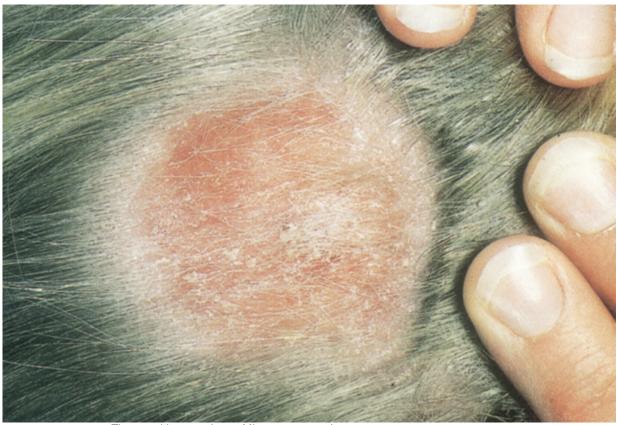


FIGURA 62-13 *Tinea capitis* causada por *Microsporum canis*. (De Hay RJ: Cutaneous and subcutaneous mycoses. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, New York, 2003, Churchill Livingstone.)



FIGURA 62-14 Tinea barbae causada por Trichophyton verrucosum. (De James W, Berger T, Elston D: Andrews' diseases of the skin, ed 11, London, 2011, Saunders, Fig. 15-3.)



FIGURA 62-15 Onicomicose causada por *Trichophyton rubrum*. (De Hay RJ: Cutaneous and subcutaneous mycoses. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, New York, 2003, Churchill Livingstone.)

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial das dermatofitoses se baseia na demonstração das hifas septadas pela microscopia direta de amostras de pele, pelos e unhas e no isolamento dos micro-organismos em cultura. As amostras são montadas sobre uma lâmina de vidro com uma gota de KOH a 10% ou 20% e examinadas microscopicamente. Os elementos característicos dos dermatófitos (hifas hialinas septadas e artroconídios) podem ser observados nas escamas de pele, de unhas e nos pelos. No exame de amostras para elementos fúngicos, o branco de calcoflúor tem sido utilizado com resultados excelentes.

As culturas são sempre úteis e podem ser obtidas por raspagem das áreas afetadas e semeadura da pele, pelos ou pedaços de unha em meio micológico padrão, como o ágar Sabouraud, com e sem antibióticos, ou DTM (*dermatophyte test medium*). As colônias se desenvolvem entre 7 e 28 dias. Suas aparências macro e microscópicas e requerimentos nutricionais podem ser utilizados na identificação. Mais recentemente, métodos moleculares e proteômicos têm sido utilizados para proporcionar meios rápidos e específicos de identificar os isolados não usuais, que são difíceis de caracterizar utilizando abordagens convencionais fenotípicas.

Tratamento

As infecções dermatofíticas localizadas e que não afetam pelos ou unhas em geral podem ser tratadas efetivamente com agentes tópicos; todas as outras requerem terapia oral. Os agentes tópicos incluem azóis (miconazol, clotrimazol, econazol, tioconazol e itraconazol), terbinafina e haloprogina. A pomada de Whitfield (ácidos salicílico e benzoico) é um agente opcional para as dermatofitoses, mas as respostas são quase sempre mais lentas que as observadas com os agentes com atividade antifúngica específica.

Os agentes antifúngicos orais com atividade sistêmica contra dermatófitos incluem griseofulvina, itraconazol, fluconazol e terbinafina. Os azóis e a terbinafina são mais rápida e amplamente eficazes que a griseofulvina, em especial no tratamento das onicomicoses.

Onicomicoses Causadas por Fungos não Dermatófitos

Numerosos fungos filamentosos não dermatófitos, assim como de espécies de *Candida*, têm sido associados a infecções de unha (Tabela 62-1). Esses micro-organismos incluem *Scopulariopsis brevicaulis, Neoscytalidium dimidiatum, Scytalidium hyalinum* e uma variedade de outros, como espécies de *Aspergillus, Fusarium* e *Candida*. Entre essesmicro-organismos, *S. brevicaulis, Neoscytalidium* spp. e *Scytalidium* spp. são patógenos de unha comprovados. Os outros fungos certamente podem ser a causa de patologia de unha, mas a interpretação das culturas de unha com esses organismos deve ser feita com cautela, pois podem simplesmente representar colonização saprofítica de material anormal de unha. Os critérios utilizados para determinar o papel etiológico desses fungos incluem isolamento em ocasiões múltiplas e a presença de hifas anormais ou estruturas conidiais no exame microscópico do material da unha.

As infecções causadas por *S. brevicaulis*, *N. dimidiatum* e *S. hyalinum* são notoriamente difíceis de tratar, pois não são, em geral, suscetíveis a quaisquer antifúngicos. A remoção cirúrgica parcial das unhas infectadas, associada a itraconazol ou terbinafina via oral ou a tratamento intensivo com esmalte de unha com amorolfina a 5% ou pomada de Whitfield, pode ser útil na obtenção de uma resposta clínica.

Referências Bibliográficas

Chandler FW, Watts JC. Pathologic diagnosis of fungal infections. Chicago: American Society for Clinical Pathology Press; 1987.

Hay RJ. Cutaneous and subcutaneous mycoses. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. New York: Churchill Livingstone; 2003.

Hiruma M, Yamaguchi H. Dermatophytes. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. New York: Churchill Livingstone; 2003.

Summerbell RC. *Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton,* and agents of superficial mycoses. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

CAPÍTULO 63

Micoses Subcutâneas

Uma "ecoturista" de 40 anos estava em uma longa viagem nas florestas da Costa Rica. Nesse período, ela acampou, subiu em árvores, atravessou rios, andou na lama e suportou as chuvas torrenciais. Ela perdeu seus sapatos com 2 semanas de sua aventura e continuou a caminhar descalça por outras 2 semanas. Durante esse tempo, sofreu pequenos cortes e escoriações em ambos os pés. Aproximadamente 6 meses após retornar para casa, no centro-oeste dos Estados Unidos, ela observou uma leve tumefação em seu pé direito. Não apresentava dor, inflamação ou drenagem do pé. Ela veio até você para um aconselhamento médico.

- 1. Qual é o diagnóstico diferencial desse processo?
- 2. Quais tipos de fungos poderiam causar essa infecção?
- 3. Como você procederá para o estabelecimento do diagnóstico?
- 4. Quais são as opções terapêuticas e a probabilidade de serem bem-sucedidas?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Sporothrix schenckii

Palavras-gatilho

Picada de espinho, doença do manipulador de rosas, mofo esfagno, nódulos linfocutâneos

Biologia, Virulência e Doença

- Fungo termodimórfico; cresce como um mofo à temperatura ambiente (p.ex., 25°C) e como uma levedura pleomórfica a 37°C e em tecidos
- A infecção é crônica; lesões nodulares e ulcerativas desenvolvem-se ao longo dos vasos linfáticos que drenam o local principal de inoculação

Epidemiologia

- Esporádica, mais comum em climas mais quentes: Japão, América do Norte e do Sul
- Surtos relacionados com o trabalho florestal, mineração, jardinagem
- Infecção clássica associada à inoculação traumática de solo, vegetais ou matéria orgânica contaminados com fungos
- Transmissão zoonótica relatada em caçadores de tatus e em associação com gatos infectados

Diagnóstico

- Infecção subcutânea com disseminação linfangítica
- O diagnóstico definitivo requer a cultura de pus ou tecido infectado
- No tecido, o organismo aparece como uma levedura de brotamento pleomórfico

Tratamento, Prevenção e Controle

- O tratamento clássico: iodeto de potássio oral em solução saturada
- Itraconazol: seguro, altamente eficaz, tratamento de escolha
- Alternativas: terbinafina, fluconazol, posaconazol
- A aplicação local de calor demonstrou ser eficaz

Micetoma Eumicótico (espécies Phaeoacremonium, Curvularia, Fusarium, Madurella, Mediacopsis, Biatrophia, Trematosphaeria, Exophiala, Falciformispora e Scedosporium/Pseudallescheria)

Palavras-gatilho

Grãos, trato sinusal, dematiácea, subcutâneo, micetoma

Biologia, Virulência e Doença

• Causado por uma vasta gama de fungos verdadeiros (em oposição aos micetomas actinomicóticos, que são causados por bactérias)

- Processo infecciosos localizado, granulomatoso crônico envolvendo tecidos cutâneos e subcutâneos
- Nódulo subcutâneo indolor; aumenta lenta, mas progressivamente em tamanho
- Disseminação local pode romper planos de tecido, destruindo músculo, fáscia, osso
- Rara disseminação hematogênica ou linfática

Epidemiologia

- Principalmente em áreas tropicais com baixa precipitação pluviométrica; mais comum em África e Índia
- Implantação traumática em zonas do corpo expostas; mais comum em pés e mãos; costas, ombros e parede torácica também podem estar envolvidos
- Os homens são afetados com mais frequência que as mulheres
- O agente etiológico varia de país para país
- Micetomas não são contagiosos

Diagnóstico

- Demonstração de grãos ou grânulos grosseiramente visíveis na drenagem de tratos sinusais; pode também ser visto na biópsia de tecido
- Exame microscópico dos grânulos
- Cultura normalmente necessária para a identificação do organismo

Tratamento, Prevenção e Controle

- Em geral sem sucesso; má resposta à maioria dos agentes antifúngicos
- O tratamento antifúngico específico pode retardar a progressão: terbinafina, voriconazol, posaconazol
- Excisão local geralmente ineficaz; a amputação é o único tratamento definitivo

Conidiobolus coronatus e Basidiobolus ranarum (haptosporus)

Palavras-gatilho

Entomoftoromicose, subcutânea, Splendore-Hoeppli, mucormicótica

Biologia, Virulência e Doença

- Entomoftoromicose subcutânea causada por Mucormicetos da ordem dos Entomophthorales: *Conidiobolus coronatus, Basidiobolus ranarum*
- Forma subcutânea crônica de mucormicose
- Ocorre esporadicamente como resultado da implantação subcutânea ou inalação do fungo presente em resíduos vegetais
- *B. ranarum*: infecção apresenta-se como massas em forma de disco, borrachosas, móveis, localizadas no ombro, pélvis, quadris, coxas; podem tornar-se muito grandes e ulcerar
- C. coronatus: confinado à área rinofacial; a deformidade facial pode ser bastante dramática
- Angioinvasão não ocorre; rara disseminação ou envolvimento de estruturas profundas

Epidemiologia

- Ambos os tipos são mais comumente vistos na África, Índia
- Ambos os fungos são saprófitas presentes nas folhas e restos de plantas
- As doenças raras sem fatores predisponentes conhecidos
- *B. ranarum*: infecção ocorre após a implantação traumática do fungo nos tecidos subcutâneos de coxas, nádegas, tronco; ocorre principalmente em crianças; relação macho/fêmea de 3:1
- *C. coronatus*: infecção ocorre após a inalação de esporos do fungo, com posterior invasão dos tecidos da cavidade nasal, seios paranasais, tecidos moles faciais; predominantemente observado em adultos jovens; relação macho/fêmea de 10:1

Diagnóstico

- O diagnóstico clínico é quase sempre evidente com base na aparência física grosseira
- Ambos os tipos de entomoftoromicose subcutânea requerem biópsia para o diagnóstico definitivo

Tratamento, Prevenção e Controle

- Ambos os tipos de infecção podem ser tratados com itraconazol; iodeto de potássio oral em solução saturada pode ser utilizado
- A cirurgia de reconstrução facial pode ser necessária no caso de infecção por C. coronatus

Muitos patógenos fúngicos podem produzir lesões subcutâneas como parte de seu processo patológico; contudo, certos fungos são comumente inseridos de maneira traumática através da pele e têm tendência a envolver as camadas mais profundas da derme, tecido subcutâneo e osso. Apesar de poderem apresentar clinicamente lesões na superfície da pele, raras vezes se disseminam para órgãos distantes. Em geral, o curso clínico é crônico e insidioso; uma vez estabelecidas, as infecções são refratárias à maioria da terapia antifúngica. As principais infecções fúngicas subcutâneas incluem

esporotricose linfocutânea, cromoblastomicose, micetoma eumicótico, entomoftoromicose subcutânea e feo-hifomicose subcutânea. Dois processos adicionais subcutâneos fúngicos ou fungiformes, a lobomicose e a rinosporidiose (protozoose), são discutidos separadamente no Capítulo 66.

Embora a esporotricose linfocutânea seja causada por um único patógeno fúngico, *Sporothrix schenckii*, as outras micoses subcutâneas são síndromes clínicas causadas por diversas etiologias fúngicas (Tabela 63-1). Os agentes causadores das micoses subcutâneas são geralmente considerados com potencial patogênico baixo e são comumente isolados do solo, de madeira ou de vegetação em decomposição. A exposição é na maioria das vezes ocupacional ou relacionada com passatempos (p.ex., jardinagem, trabalho com madeira). Os pacientes infectados em geral não apresentam deficiência imune de base.



Tabela 63-1

Agentes Comuns de Micoses Subcutâneas

Doença	Agente(s) Etiológico(s)	Morfologia Típica no Tecido	Reação Comum do Hospedeiro
Esporotricose	Sporothrix schenckii	Leveduras pleomórficas, esféricas a ovais ou em forma de charuto, 2-10 µm de diâmetro, com brotamento único ou múltiplos (raros) Veja a Figura 63-3	Material de Splendore- Hoeppli misto, supurativo e granulomatoso ao redor do fungo (corpo asteroide) Veja a Figura 63-4
Cromoblastomicose	Cladophialophora (Cladosporium) carrionii, Fonsecaea compacta, Fonsecaea pedrosoi, Phialophora verrucosa, Rhinocladiella spp., Exophiala spp.	Células muriformes marrons grandes, 6-12 µm de diâmetro, esféricas, de parede espessa (corpos escleróticos), com septações em um ou dois planos; hifas pigmentadas podem estar presentes Veja a Figura 63-6	Mista, supurativa e granulomatosa; hiperplasia pseudoepiteliomatosa
Micetoma eumicótico	Phaeoacremonium spp., Fusarium spp., Aspergillus nidulans, Scedosporium boydii, Madurella spp., Exophiala jeanselmei, entre outros	Grânulos com 0,2 a vários mm de diâmetro, compostos de hifas septadas grandes (2-6 µm), hialinas (grãos claros) ou dematiáceas (grãos pretos) que se ramificam e formam clamidoconídios	Supurativa com abscessos múltiplos, fibrose e tratos sinusais; material de Splendore-Hoeppli
Entomoftoromicose subcutânea	Basidiobolus ranarum (haptosporus), Conidiobolus coronatus	Fragmentos de hifas curtas fracamente coradas, 6-25 µm de diâmetro, de lados não paralelos, paucisseptadas e com ramificações aleatórias Veja Figura 63-10	Abscessos eosinofílicos e tecido de granulação; material de Splendore-Hoeppli ao redor das hifas
Feo-hifomicose subcutânea	Exophiala jeanselmei Exophiala dermatitidis Alternaria spp. Chaetomium spp. Curvularia spp. Phialophora spp. entre outros	Hifas pigmentadas (marrons), 2-6 µm de diâmetro, ramificadas ou não, frequentemente constritas nas septações proeminentes; formas de leveduras e clamidoconídios podem estar presentes Veja a Figura 63-11	Granulomas subcutâneos císticos ou sólidos; epiderme sobrejacente raras vezes afetada

Modificada de Chandler FW, Watts JC: Pathologic diagnosis of fungal infections, Chicago, 1987, American Society for Clinical Pathology Press.

Esporotricose Linfocutânea

A esporotricose linfocutânea (Caso Clínico 63-1) é causada por *Sporothrix schenckii*, um fungo dismórfico ubíquo no solo e na vegetação em decomposição. A infecção por este organismo é crônica e caracterizada por lesões nodulares e ulcerativas que se desenvolvem ao longo dos linfáticos que drenam o ponto primário da inoculação (Fig. 63-1). A disseminação para outros locais (p.ex., ossos, olhos, pulmões, sistema nervoso central) é extremamente rara (< 1% dos casos) e não será discutida. Em temperatura ambiente, *S. schenckii* cresce como um fungo filamentoso (Fig. 63-2), e, a 37°C e no tecido, é uma levedura pleomórfica (Fig. 63-3; Tabela 63-1).

Haddad et al. (*Med Mycol* 40:425-427, 2002) descreveram um caso de esporotricose linfangítica, após ferimento com espinha de peixe. O paciente, um pescador de 18 anos, residente em área rural do estado de São Paulo, feriu seu terceiro dedo da mão esquerda na espinha dorsal de um peixe que havia pescado durante seu trabalho. Posteriormente, na área ao redor do ferimento, desenvolveram-se edema, ulceração, dor e secreção purulenta. O primeiro médico que o examinou, interpretou a lesão como um processo bacteriano piogênico e prescreveu tetraciclina oral durante 7 dias. Nenhuma melhora foi observada, e a terapia foi alterada para cefalexina, com resultados similares.

No exame 15 dias após o acidente, o paciente apresentou úlcera e nódulos no dorso da mão esquerda e no braço, formando um padrão de linfangite nodular ascendente. As hipóteses diagnósticas consideradas foram esporotricose linfangítica localizada, leishmaniose esporotricoide e micobacteriose atípica (*Mycobacterium marinum*). O exame histopatológico do material da lesão revelou um padrão granulomatoso ulcerado crônico de inflamação com microabscessos intradérmicos. Não foram observados bacilos acidorresistentes ou elementos fúngicos. Na cultura do material de biópsia, em ágar Sabouraud, cresceu um fungo filamentoso caracterizado por hifas finas e septadas com conídios dispostos em roseta na extremidade dos conidióforos, compatível com *Sporothrix schenckii*. A intradermorreação com esporotriquina foi positiva. O paciente foi tratado com iodeto de potássio, por via oral, com resolução clínica após 2 meses de terapia.

A apresentação clínica neste caso foi típica de esporotricose; contudo, a fonte de infecção (espinha de peixe) foi incomum. Apesar da grande incidência de infecção por *M. marinum* entre pescadores e aquaristas, a esporotricose deve ser lembrada quando esses trabalhadores mostram lesões com um padrão de linfangite ascendente, após ferimentos pelo contato com peixes.



FIGURA 63-1 Forma linfocutânea clássica da esporotricose, demonstrando uma cadeia de nódulos subcutâneos ao longo da drenagem linfática do braço. (De Kradin RL: Diagnostic pathology of infectious disease, Philadelphia, 2010, Saunders, Fig. 19-89.)

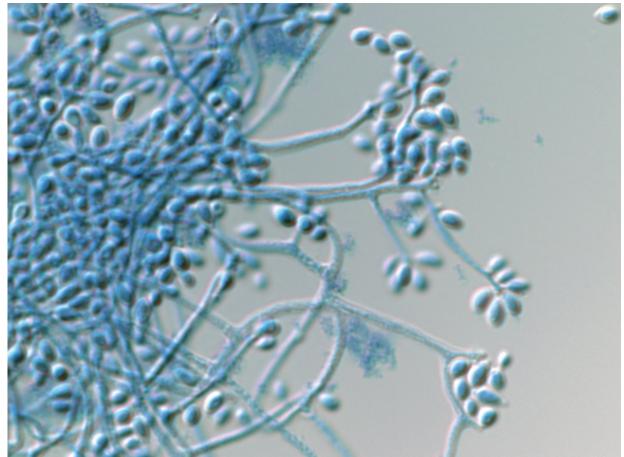


FIGURA 63-2 Fase filamentosa de Sporothrix schenckii.

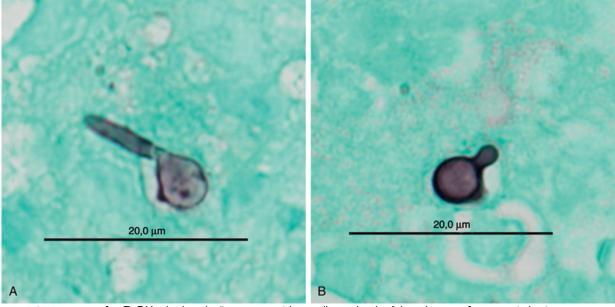


FIGURA 63-3 A e B, Biópsia do pulmão na esporotricose disseminada. A levedura em A apresenta broto em forma de charuto (Gomori prata-metenamina). (De Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: Clinical mycology, London, 2009, Churchill Livingstone.)

Morfologia

 $S.\ schenkii$ é termodismórfico. As culturas em forma filamentosa crescem rapidamente e têm uma superfície membranosa rugosa que gradualmente se torna acastanhada, marrom ou preta. Microscopicamente, a forma filamentosa consiste em hifas estreitas, septadas e hialinas, que produzem conídios ovais abundantes ($2 \times 3 \mu m$ a $3 \times 6 \mu m$) em esterigmas delicados ou dispostos em forma de roseta ou em "pétalas de margarida" na extremidade dos conidióforos (Fig. 63-2). A forma de levedura consiste em células leveduriformes esféricas, ovais ou alongadas ("forma de charuto"), de 2 a $10~\mu m$ de diâmetro,

com brotamento único ou múltiplo (raramente) (Tabela 63-1 e Fig. 63-3). Embora esta seja a "fase em tecido" de *S. schenckii,* as formas de levedura são raramente observadas no exame histopatológico.

Epidemiologia

A esporotricose é, na maioria das vezes, esporádica e mais comum em climas mais quentes. As principais áreas endêmicas estão no Japão, nas Américas do Norte e do Sul, especialmente México, Brasil, Uruguai, Peru e Colômbia. Surtos de infecção relacionados com o trabalho em floresta, mineração e jardinagem têm ocorrido. A infecção clássica está associada à inoculação traumática de solo, vegetais ou matéria orgânica contaminada com o fungo. A transmissão zoonótica tem sido reportada em caçadores de tatus e em associação com gatos infectados. Entre 1998 e 2001, um grande surto de esporotricose transmitida por gatos, envolvendo 178 pacientes, foi reportado no Rio de Janeiro, Brasil.

Síndromes Clínicas

A esporotricose linfangítica classicamente aparece após o trauma local em uma extremidade. O local inicial da infecção aparece como um nódulo pequeno, que pode ulcerar. Posteriormente, nódulos linfáticos aparecem cerca de 2 semanas após o aparecimento da lesão primária, que consiste em uma cadeia linear de nódulos subcutâneos indolores que se estendem ao longo do curso da drenagem linfática da lesão primária (Fig. 63-1). Com o tempo, os nódulos podem ulcerar e liberar pus. As lesões cutâneas primárias podem permanecer "fixas" sem disseminação linfangítica. Clinicamente, essas lesões são nodulares, verrucoides ou ulcerativas e grosseiramente podem lembrar um processo maligno como carcinoma de células escamosas. Outras causas infecciosas de linfangite e lesões ulcerativas que devem ser excluídas incluem infecções por micobactérias e nocárdias.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico definitivo normalmente requer cultura do pus ou do tecido infectado. *S. schenckii* cresce em 2 a 5 dias, em uma variedade de meios micológicos, e aparece como leveduras com brotamento a 35°C e como um fungo filamentoso a 25°C (Figs. 63-2 e 63-3). A confirmação laboratorial pode ser estabelecida pela conversão do crescimento da fase filamentosa (micelial) à forma de levedura, por subcultura a 37°C, ou, imunologicamente, pela utilização do teste do exoantígeno. No tecido, o organismo aparece como leveduras pleomórficas de 2 a 10 µm, com brotamento (Fig. 63-3), porém são raramente observadas em lesões humanas. O aparecimento do material de Splendore-Hoeppli ao redor das células leveduriformes (corpo asteroide) pode ser útil (Fig. 63-4), mas isso é observado também em outros tipos de infecção (Tabela 63-1). Um teste sorológico está disponível comercialmente, mas raras vezes é utilizado no diagnóstico de esporotricose.

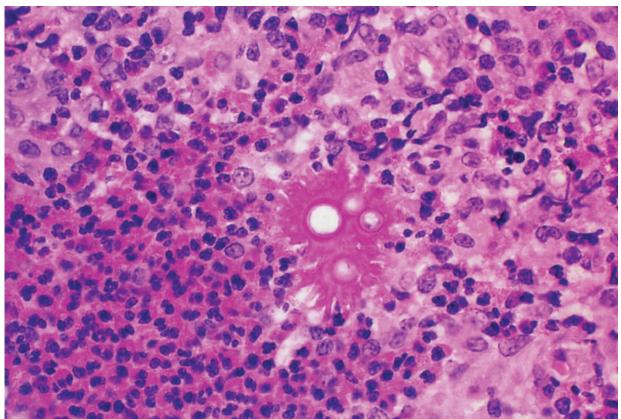


FIGURA 63-4 Corpo asteroide na esporotricose. As células leveduriformes esféricas são circundadas por material Splendore-Hoeppli (hematoxilina e eosina, ampliado 160 vezes). (De Connor DH, Schwartz DA: Pathology of infectious diseases, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Tratamento

O tratamento clássico da esporotricose linfocutânea é o iodeto de potássio em solução saturada, via oral. A eficácia e o baixo custo dessa medicação fizeram dela uma opção favorável, especialmente em países com poucos recursos, porém deve ser administrada diariamente por 3 a 4 semanas e tem efeitos adversos frequentes (náusea, hipertrofia das glândulas salivares). O itraconazol tem se mostrado seguro e altamente eficaz em pequenas doses, sendo o tratamento de escolha atual. Os pacientes que não respondem bem podem tomar doses maiores de itraconazol, terbinafina ou iodeto de potássio. O fluconazol ou o posaconazol podem ser usados se o paciente não tolerar esses outros agentes. A remissão espontânea é rara, mas foi observada em 13 dos 178 casos no Brasil. A aplicação local de calor também se mostrou eficaz.

Cromoblastomicose

A cromoblastomicose (cromomicose; Caso Clínico 63-2) é uma infecção fúngica crônica que afeta a pele e os tecidos subcutâneos. É caracterizada pelo desenvolvimento de nódulos ou placas verrucosas de crescimento lento (Fig. 63-5). A cromoblastomicose é mais comumente observada nos trópicos, onde o calor e o ambiente úmido, associados à falta de calçados protetores e roupas, predispõem as pessoas à inoculação direta com solo ou matéria orgânica infectados. Os organismos mais comumente associados à cromoblastomicose são fungos pigmentados (dematiáceos) dos gêneros Fonsecaea, Cladosporium, Exophiala, Cladophialophora, Rhinocladiella e Phialophora (Tabela 63-1).



Caso Clínico 63-2 Cromoblastomicose

Marques et al. (*Med Mycol* 42:261, 2004) descreveram o caso de um fazendeiro do Brasil, de 52 anos, que apresentou queixas de lesões na pele, pruriginosas e escuras. O problema havia aparecido 2 anos antes e progrediu lentamente. O paciente ignorava um trauma prévio, mas se lembrou da picada de um inseto em seu braço esquerdo. Inicialmente, a lesão que se desenvolveu no local era uma pápula pequena, elevada e eritematosa. Mais tarde, novos focos de lesões apareceram na perna esquerda e, mais recentemente, na testa e no lado esquerdo da face. O exame físico revelou lesões extensivas em placas escamosas situadas em diferentes locais na face, braço e perna. O exame direto, com hidróxido de potássio, das biópsias das lesões, revelou numerosas células escleróticas pigmentadas, redondas e bilateralmente divididas (corpos de Medlar), confirmando assim o diagnóstico clínico de cromoblastomicose. Nas culturas da biópsia, cresceu um fungo filamentoso com pigmento escuro, que foi identificado, com base nas características conidiogênicas, como *Rhinocladiella aquaspersa*. As lesões regrediram após terapia com cetoconazol, com diminuição dos sintomas pruriginosos. Infelizmente, o paciente não retornou. A cromoblastomicose causada por *R. aquaspersa* é relativamente incomum. Além disso, este caso é raro, uma vez que as lesões estavam dispersas em três diferentes regiões anatômicas. Notavelmente, a ocorrência de lesões faciais é muito incomum.



FIGURA 63-5 Cromoblastomicose do pé e da perna. (De Connor DH, Schwartz DA: Pathology of infectious diseases, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Morfologia

Os fungos que causam a cromoblastomicose são todos dematiáceos (pigmentados naturalmente), porém morfologicamente diversos, e muitos são capazes de produzir diferentes formas quando crescem em cultura. Por exemplo, *Exophiala* spp. podem crescer como fungos filamentosos e formar células produtoras de conídios denominadas **anelídeos**, e também como leveduras, que podem aparecer em colônias recém-isoladas. Embora a forma básica desses organismos seja um fungo filamentoso septado e pigmentado, os diferentes mecanismos de esporulação produzidos em cultura tornam difícil a identificação específica. Esta pode exigir a análise da sequência de ácidos nucleicos.

Em contraste à morfologia diversa observada em cultura, todos os fungos, no tecido, que causam a cromoblastomicose formam, caracteristicamente, células muriformes (corpos escleróticos, corpúsculos de Medlar) que são castanhas devido à melanina em suas paredes celulares (Fig. 63-6; Tabela 63-1). As células muriformes se dividem por septação interna e aparecem como células apresentando linhas verticais e horizontais dentro do mesmo ou em diferentes planos (Fig. 63-6). Além das células muriformes, hifas pigmentadas também podem estar presentes. As células fúngicas podem estar livres no tecido, mas muitas vezes estão no interior de macrófagos ou de células gigantes.

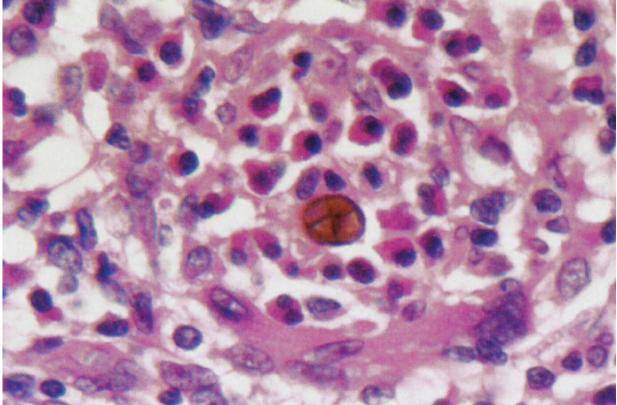


FIGURA 63-6 Célula muriforme pigmentada de marrom, ou corpo Medlar, da cromoblastomicose (hematoxilina e eosina, ampliado 250 vezes). (De Connor DH, Schwartz DA: Pathology of infectious diseases, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Epidemiologia

Geralmente, a cromoblastomicose afeta pessoas que trabalham em áreas rurais dos trópicos. Os agentes etiológicos crescem em plantas silvestres e no solo. A maioria das infecções tem ocorrido em homens, envolvendo as pernas e os braços, provavelmente devido à exposição ocupacional. Outros locais do corpo incluem ombro, pescoço, tronco, nádegas, face e orelhas. Os fatores climáticos locais podem influenciar a distribuição de diferentes infecções e diferentes agentes etiológicos. Por exemplo, em Madagascar, as infecções causadas por *Fonsecaea pedrosoi* são vistas em áreas de alta precipitação pluviométrica (200 a 300 cm anualmente), enquanto na mesma ilha as infecções causadas por *Cladophialophora carrionii* ocorrem em áreas de pouca precipitação pluviométrica (50 a 60 cm anualmente). Nas Américas, *F. pedrosoi* é a principal causa de cromoblastomicose, e as lesões envolvem, comumente, as extremidades inferiores. Em contraste, na Austrália a causa mais comum é *C. carrionii*, e as lesões são mais frequentes nos membros superiores, especialmente nas mãos. Não há nenhum relato de transmissão pessoa a pessoa.

Síndromes Clínicas

A cromoblastomicose tende a ser crônica, pruriginosa, progressiva, indolor e resistente ao tratamento. Em muitos casos, os pacientes não apresentam sintomas até a infecção estar bem estabelecida. As lesões iniciais são pequenas pápulas verrucosas e, em geral, aumentam lentamente. Há formas morfológicas diferentes da doença, variando desde lesões verrucosas a placas planas. As infecções estabelecidas se apresentam com várias verrugas grandes, semelhantes a uma "couve-flor", em geral agrupadas dentro da mesma região (Fig. 63-5). Lesões-satélite podem ocorrer secundariamente à autoinoculação. Lesões em placa mostram, muitas vezes, cicatrização central enquanto aumentam. Ulceração e formação de cisto podem ocorrer. As lesões grandes apresentam hiperceratose, e o membro é grosseiramente distorcido devido à fibrose e ao linfedema secundário (Fig. 63-5). Infecção bacteriana secundária também pode ocorrer e contribui para uma linfadenite regional, linfoestase e eventual elefantíase.

Diagnóstico Laboratorial

A apresentação clínica (Fig. 63-5), os achados histopatológicos das células muriformes castanhas (Fig. 63-6) e o isolamento em cultura de um dos fungos causais (Tabela 63-1) confirmam o diagnóstico. Raspados obtidos da superfície das lesões verrucosas, em que pequenos pontos negros são observados, quando montados em KOH 20%, podem resultar na demonstração das células características. Amostras de biópsia coradas com hematoxilina e eosina (H&E) (Cap. 60) também mostrarão o organismo presente na epiderme ou em microabscessos contendo macrófagos e células gigantes. A reação inflamatória é tanto supurativa como granulomatosa, com fibrose dérmica e hiperplasia pseudoepiteliomatosa. Os organismos são facilmente cultivados a partir da lesão, embora sua identificação possa ser difícil. Não há testes sorológicos disponíveis para cromoblastomicose.

Tratamento

O tratamento com terapia antifúngica específica é, muitas vezes, ineficaz devido ao estágio avançado da infecção no momento da apresentação. As drogas que parecem ser mais eficazes são itraconazol e terbinafina. Mais recentemente, o posaconazol está sendo utilizado com sucesso moderado. Esses agentes são, muitas vezes, combinados com a flucitosina em casos refratários. Num esforço para aumentar a resposta ao tratamento, são feitas várias tentativas de aplicação, nas lesões maiores, de calor ou crioterapia local antes da administração dos agentes antifúngicos. Por causa do risco de desenvolvimento recorrente dentro da cicatriz, as cirurgias não são indicadas. Carcinomas de células escamosas podem se desenvolver em lesões de longa duração, e aquelas com áreas atípicas ou formações carnosas devem ser biopsiadas para excluir essa complicação.

Micetoma Eumicótico

Os micetomas eumicóticos são aqueles causados por fungos verdadeiros, ao contrário dos micetomas actinomicóticos, que são causados por actinomicetos aeróbios (bactérias). Esta seção tratará apenas dos micetomas eumicóticos.

Como a cromoblastomicose, a maioria dos micetomas eumicóticos ocorre nos trópicos. Um micetoma é definido clinicamente como um processo infeccioso localizado, crônico e granulomatoso que envolve os tecidos cutâneos e subcutâneos. É caracterizado pela formação de vários granulomas e abscessos que contêm grandes agregados de hifas fúngicas, conhecidos como **grânulos** ou **grãos**. Esses grãos contêm células que apresentam modificações marcadas de estrutura interna e externa, variando desde reduplicações da parede celular à formação de uma matriz extracelular dura, semelhante a cimento. Os abscessos drenam externamente através da pele, muitas vezes com eliminação dos grânulos. O processo pode ser bastante extenso e deformante, com destruição do músculo, tecido conjuntivo e ossos. Os agentes etiológicos do micetoma eumicótico abrangem uma ampla variedade de fungos, incluindo *Phaeoacremonium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Madurella*, *Mediacopsis*, *Biatrophia*, *Trematosphaeria*, *Exophiala*, *Falciformispora* e espécies de *Scedosporium/Pseudallescheria* (Tabela 63-1).

Morfologia

Os grânulos dos micetomas eumicóticos são compostos de hifas septadas de 2 a 6 µm ou mais de largura, dematiáceas (grãos pretos) ou hialinas (grãos brancos ou branco-amarelados), dependendo do agente etiológico (Fig. 63-7). As hifas são frequentemente distorcidas e irregulares em relação à forma e ao tamanho. Clamidoconídios grandes, esféricos e de parede espessa estão, muitas vezes, presentes. As hifas podem estar inseridas em uma substância amorfa semelhante a cimento. O material de Splendore-Hoeppli muitas vezes é observado entre os elementos micelianos na periferia do grânulo. Os grânulos eumicóticos podem ser diferenciados dos grânulos actinomicóticos com base nas características morfológicas (filamentos ramificados *versus* hifas septadas e clamidoconídios) e na coloração (bastonetes Gram-positivos em cadeia *versus* hifas que se coram com ácido periódico de Schiff [PAS] e Gomori-prata metenamina [GMS]) (Cap. 60). A cultura é geralmente necessária para uma identificação definitiva do fungo (ou actinomiceto) envolvido.

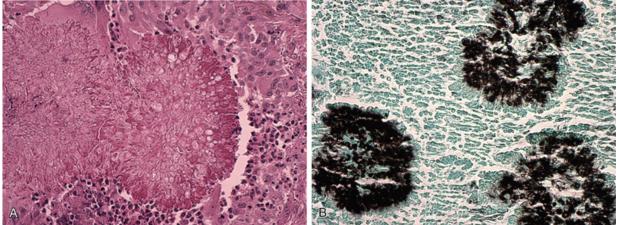


FIGURA 63-7 A, Grânulo de micetoma por *Curvularia geniculata*. B, Hifas dematiáceas compactas e clamidoconídios embebidos em substância semelhante a cimento.

Epidemiologia

Os micetomas ocorrem sobretudo em áreas tropicais com baixos índices pluviométricos. Os micetomas eumicóticos são mais frequentes na África e na Índia, mas também têm sido observados no Brasil, Venezuela e no Oriente Médio. Todos os pacientes são infectados a partir de fontes na natureza, via implantação percutânea traumática do agente etiológico em partes expostas do corpo. O pé e a mão são mais acometidos, mas também são vistas infecções no dorso, ombros e tórax. Os homens são comumente mais afetados que as mulheres. Os fungos que causam micetomas eumicóticos diferem de país

para país, e os agentes que são comuns em uma região são raras vezes reportados em outras. Os micetomas não são contagiosos.

Síndromes Clínicas

Similarmente à cromoblastomicose, é mais comum que pacientes com micetoma eumicótico se apresentem com infecção de longa duração. A lesão inicial é um nódulo ou placa subcutânea pequena e indolor, que aumenta lenta, mas progressivamente, de tamanho. Enquanto o micetoma se desenvolve, a área afetada aumenta de maneira gradual e se torna desfigurada, como resultado da inflamação crônica e da fibrose. Com o tempo, tratos sinusais aparecem sobre a superfície da pele e drenam um líquido serossanguinolento que contém, muitas vezes, grânulos grosseiramente visíveis. A infecção comumente rompe planos teciduais e destrói localmente o músculo e o osso. A disseminação hematogênica ou linfática, a partir do foco primário a locais distantes ou vísceras, é extremamente rara.

Diagnóstico Laboratorial

A chave para o diagnóstico do micetoma eumicótico é a demonstração dos grãos ou grânulos. Os grãos podem ser grosseiramente visíveis na drenagem dos tratos sinusais ou observados em uma lâmina de vidro. O material também pode ser obtido por biópsia cirúrgica profunda.

Os grãos podem ser visualizados microscopicamente por montagem em KOH a 20%. As hifas são, em geral, claramente visíveis, com presença ou ausência de pigmentação. Os grãos podem ser lavados e cultivados ou fixados e seccionados para histopatologia.

Eles são facilmente visualizados no tecido corado com H&E (Fig. 63-7). Corantes especiais como PAS e GMS também podem ser úteis. Apesar da cor, forma, tamanho e morfologia microscópica serem características de um agente causal específico, a cultura é, em geral, necessária para a identificação definitiva do organismo. A maioria dos organismos cresce em meio micológico padrão; contudo, a inclusão de um antibiótico, como a penicilina, pode ser útil para inibir bactérias contaminantes que possam crescer sobre o fungo.

Tratamento

O tratamento do micetoma eumicótico é, geralmente, sem sucesso. A resposta dos vários agentes etiológicos à anfotericina B, ao cetoconazol ou ao itraconazol é variável e, muitas vezes, fraca, embora tais terapias possam diminuir o curso da infecção. Respostas promissoras ao tratamento têm sido hoje em dia reportadas para terbinafina, voriconazol e posaconazol. A excisão local é geralmente ineficaz ou impossível, e a amputação é o único tratamento definitivo. Como essas infecções são, em geral, de progressão lenta e podem ser reduzidas por uma terapia antifúngica específica, a decisão de amputação deve levar em consideração a taxa de progressão, a sintomatologia, a disponibilidade de prótese adequada e as circunstâncias individuais do paciente. Por todas essas razões, é imperativo diferenciar o micetoma eumicótico do micetoma actinomicótico. A terapia médica é quase sempre efetiva nos casos de micetoma actinomicótico.

Entomoftoromicose Subcutânea

A **entomoftoromicose** subcutânea, também conhecida como mucormicose subcutânea, é causada por Mucormicetos da ordem Entomophthorales: *Conidiobolus coronatus* e *Basidiobolus ranarum* (*haptosporus*) (Tabela 63-1). Ambos os fungos causam uma forma subcutânea crônica de mucormicose que ocorre, esporadicamente, como resultado de implantação traumática do fungo, presente em detritos vegetais de ambientes tropicais. Eles diferem por ocasionar infecções em diferentes localizações anatômicas. *B. ranarum* causa infecção subcutânea dos membros proximais, em crianças, enquanto a infecção por *C. coronatus* se localiza na área facial, predominantemente em adultos (Figs. 63-8 e 63-9).



FIGURA 63-8 Entomoftoromicose subcutânea causada por *Conidiobolus coronatus*. (De Hay RJ: Fungal infections, *Clin Dermatol* 24(3):201–212, 2006, Fig. 6.)



FIGURA 63-9 Entomoftoromicose subcutânea causada por *Basidiobolus ranarum*. A coxa direita está extensivamente inchada e endurecida. (De Anaparthy UR, Deepika G: A case of subcutaneous zygomycosis, *Indian Dermatol Online* J 5:51–54, 2014, Fig. 1.)

Morfologia

A aparência dos agentes da entomoftoromicose subcutânea no tecido difere daquela dos Mucormicetos da família Mucoraceae. As hifas são escassas e muitas vezes aparecem como fragmentos de hifas rodeados por material eosinofílico (Splendore-Hoeppli) (Fig. 63-10). A resposta inflamatória é granulomatosa e rica em eosinófilos. Os fragmentos de hifas são de parede fina e se coram fracamente. Embora os septos não sejam frequentes, podem ser mais proeminentes que os observados na família Mucoraceae. As hifas de Entomophthoraceae não são angioinvasivas.

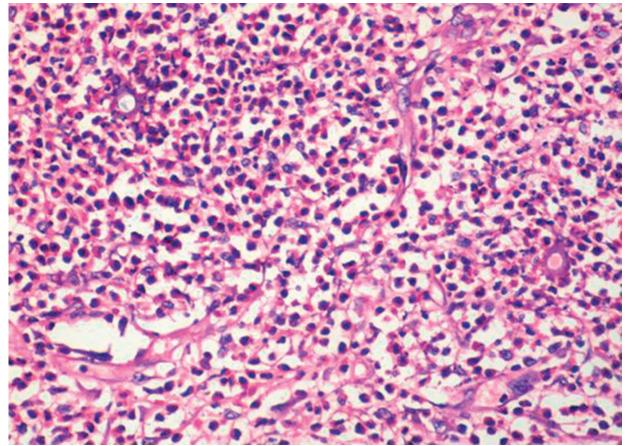


FIGURA 63-10 Entomoftoromicose subcutânea. Fragmentos de hifas largas, cercadas por material eosinofílico de Splendore-Hoeppli (hematoxilina e eosina, ampliado 160 vezes). (De Anand M, Deshmukh SD, Pande DP, et al: Subcutaneous zygomycosis due to Basidiobolus ranarum: a case report from Maharastra, India, J Trop Med 2010:950390, 2010.)

Epidemiologia

Ambos os tipos de entomoftoromicose subcutânea são observados mais comumente na África e, em uma extensão menor, na Índia. A infecção causada por *B. ranarum* tem sido reportada no Oriente Médio, Ásia e Europa, enquanto a causada por *C. coronatus* tem sido reportada na América Latina e também na África e Índia. Ambos os fungos são saprófitos, presentes nas folhas e detritos vegetais. *B. ranarum* também tem sido encontrado no conteúdo intestinal de pequenos répteis e anfíbios. Ambas são doenças raras sem fatores predisponentes conhecidos (p.ex., acidose ou imunodeficiência). A infecção causada por *B. ranarum* ocorre após implantação traumática do fungo nos tecidos subcutâneos das coxas, nádegas e tronco. Esta forma de entomoftoromicose subcutânea atinge principalmente crianças (80% < 20 anos), com uma relação homemmulher de 3:1. As infecções por *C. coronatus* ocorrem após inalação dos esporos fúngicos, que invadem os tecidos da cavidade nasal, os seios paranasais e os tecidos moles faciais. Há uma relação homem/mulher de 10:1, e a doença é observada predominantemente entre adultos jovens. A infecção entre crianças é rara.

Síndromes Clínicas

Os pacientes infectados por *B. ranarum* apresentam massas em forma de disco, flexíveis e móveis, que podem ser muito grandes e são localizadas no ombro, na pelve, nos quadris e nas coxas (Fig. 63-9). As massas podem se expandir localmente e eventualmente ulcerar. A disseminação ou o envolvimento de estruturas mais profundas são raros. Basidiobolomicose gastrointestinal recentemente tem sido reportada no sudoeste dos Estados Unidos.

A infecção por *C. coronatus* é confinada à área rinofacial e, muitas vezes, não chama a atenção do clínico até que ocorra tumefação evidente da parte superior do lábio ou da face (Fig. 63-8). A tumefação é firme e indolor, podendo progredir lentamente, envolvendo a ponte nasal e a parte superior e inferior da face, inclusive a órbita. A deformidade facial pode ser bastante dramática; contudo, devido à ausência de angioinvasão, a extensão intracraniana não ocorre.

Diagnóstico Laboratorial

Ambos os tipos de entomoftoromicose subcutânea requerem biópsia para o diagnóstico, apesar dos aspectos clínicos característicos das infecções. O quadro histopatológico é o mesmo para esses organismos (Fig. 63-10) e é marcado por zonas focais de inflamação, com eosinófilos e hifas mucormicóticas típicas, muitas vezes rodeadas por material eosinofílico de Splendore-Hoeppli. Os organismos podem ser cultivados a partir do material clínico, em meio micológico padrão.

Tratamento

Os dois tipos de infecção podem ser tratados com itraconazol. Alternativamente, tem sido utilizado iodeto de potássio por via oral. A cirurgia facial reconstrutiva pode ser necessária, no caso de infecção por *C. coronatus*; uma extensiva fibrose permanece após a erradicação do fungo.

Feo-hifomicose Subcutânea

Feo-hifomicose (Caso Clínico 63-3) é um termo utilizado para descrever um conjunto heterogêneo de infecções fúngicas causadas por fungos pigmentados (dematiáceos) presentes nos tecidos como hifas irregulares (Fig. 63-11), em vez de células muriformes escleróticas observadas na cromoblastomicose (Tabela 63-1 e Fig. 63-6). Essas infecções podem ser causadas por uma ampla variedade de fungos, todos existentes na natureza como saprófitas do solo, da madeira e vegetação em decomposição. Os processos feo-hifomicóticos podem ser superficiais, subcutâneos ou profundamente invasivos ou disseminados. As formas superficiais (Cap. 62) e profundamente invasivas (Cap. 65) são discutidas em seus respectivos capítulos. A forma subcutânea é discutida nesta seção.



Caso Clínico 63-3 Feo-hifomicose em Paciente com Transplante Renal

Marques et al. (*Med Mycol* 44:671-676, 2006) descreveram um caso de feo-hifomicose subcutânea em um receptor de transplante renal. O paciente era um homem diabético, de 49 anos, que, durante 5 anos, recebeu terapia imunossupressora com prednisona e ciclosporina A, logo após o transplante renal. Ele apresentou história de 1 ano com lesões drenantes no pé. O paciente negou qualquer história de trauma no local, porém tinha trabalhado em atividades rurais até a ocasião da queixa inicial. Foi tratado para uma suposta infecção bacteriana, sem resposta. O exame dermatológico revelou dois tumores císticos confluentes no dorso do pé esquerdo, com pontos de drenagem emitindo uma secreção serossanguinolenta. Uma tomografia computadorizada local mostrou somente uma lesão hipodensa circunscrita. Uma aspiração com agulha e uma ampla biópsia foram realizadas, para confirmar o diagnóstico presumido de feo-hifomicose. O exame histopatológico revelou um infiltrado inflamatório intenso e raras hifas. A cultura do material de biópsia revelou um fungo filamentoso, de crescimento lento, com uma coloração de bege a marromacinzentada. O organismo foi finalmente identificado como *Phaeoacremonium parasiticum*, por meio de uma combinação da morfologia e dos métodos de identificação molecular. O paciente foi tratado com itraconazol associado a irrigação local e diminuição na dosagem de ciclosporina A, obtendo uma resposta satisfatória.

Este caso ilustra uma aparente tendência de pacientes transplantados imunocomprometidos, com infecções localizadas por *P. parasiticum*, terem adquirido tal infecção sem traumatismo reconhecido. Não está claro se essas infecções são adquiridas via fissuras menores na pele ou inalação ou ingestão de uma partícula infecciosa, com subsequente translocação para os vasos capilares subcutâneos, quando a temperatura é diminuída ligeiramente ou outras condições locais podem favorecer o crescimento.

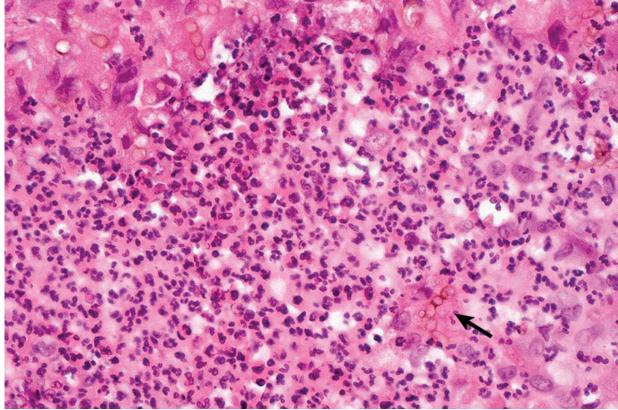


FIGURA 63-11 Feo-hifomicose subcutânea. Células leveduriformes dematiáceas e hifas septadas de *Exophiala spinifera* com material de Splendore-Hoeppli (*seta*) circundante (hematoxilina e eosina, ampliado 250 vezes). (De Brinster N, Liu V, Diwan H, et al: *Dermatopathology: a volume in the high yield pathology series*, Philadelphia, 2011, Saunders, p 258, Fig. 5.)

Morfologia

Os agentes da feo-hifomicose subcutânea são numerosos e diversos (Tabela 63-1), mas todos crescem como fungos filamentosos negros em cultura e aparecem como hifas irregulares com paredes escuras e formas semelhantes a leveduras no tecido (Fig. 63-11). As hifas variam de 2 a 6 µm de largura e podem ser ramificadas, septadas e, muitas vezes, comprimidas no ponto de septação. Tumefações vesiculares estranhas e de paredes espessas, podendo ser maiores que 25 µm de diâmetro, podem estar presentes como estruturas leveduriformes com brotamento. A pigmentação da parede celular varia de clara a escura e pode necessitar de corantes especiais (p.ex., corante de melanina de Fontana-Masson) para confirmar a natureza dematiácea do fungo. Em cultura, os diferentes fungos crescem como fungos filamentosos negros ou marrons e são identificados pelas estruturas de reprodução.

Epidemiologia

Mais de 20 diferentes fungos dematiáceos têm sido citados como causadores de feo-hifomicose subcutânea. Os agentes etiológicos mais frequentes são *Exophiala jeanselmei, Alternaria, Curvularia,* e *Phaeoacremonium* spp. (Tabela 63-1). Como tais fungos são encontrados no solo e em detritos vegetais, a rota de infecção parece ser secundária à implantação traumática do fungo. De fato, fragmentos de madeira têm sido encontrados em material histopatológico, sugerindo o modo de inoculação e, possivelmente, que a formação do cisto feo-hifomicótico característico seja uma reação à implantação. Não há explicação sobre a causa de alguns organismos produzirem cistos feo-hifomicóticos e outros se desenvolverem em micetomas.

Síndromes Clínicas

Mais comumente, a feo-hifomicose subcutânea se apresenta como um cisto inflamatório solitário. As lesões ocorrem, geralmente, nos pés e nas pernas, embora as mãos e outros locais do corpo possam ser envolvidos. As lesões aumentam lentamente e se expandem num período de meses ou anos. Os cistos podem ser firmes ou flutuantes e são, em geral, indolores. Se localizados próximo a uma articulação, podem ser confundidos com um cisto sinovial e se tornar grandes o suficiente para interferirem no movimento. Outras manifestações incluem a formação de lesões em placa pigmentadas que são endurecidas e indolores.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é baseado na excisão cirúrgica do cisto. No exame histopatológico, a aparência é de um cisto inflamatório com uma cápsula fibrosa, reação granulomatosa e necrose central. Os elementos fúngicos dematiáceos, individuais e agrupados, são vistos dentro de células gigantes e, no meio extracelular, dos debris necróticos (Fig. 63-11). Em geral, a pigmentação é

facilmente observada no exame de tecido corado por H&E. Os organismos podem crescer em cultura e ser identificados por seus padrões de esporulação.

Tratamento

O principal tratamento é a excisão cirúrgica. As lesões semelhantes a placas podem não ser tratáveis com essa abordagem e, em geral, respondem ao tratamento com itraconazol com ou sem flucitosina concomitante. Posaconazol, voriconazol e terbinafina também podem ser ativos contra esse grupo de fungos.

Referências Bibliográficas

Ahmed AOA, De Hoog GS. Fungi causing eumycotic mycetoma. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Barros MB, Schubach Ade O, do Valle AC, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis*. 2004;38:529–535.

Chandler FW, Watts JC. Pathologic diagnosis of fungal infections. Chicago: American Society for Clinical Pathology Press; 1987.

Connor DH, Schwartz DA. Pathology of infectious diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange; 1997.

Garcia-Hermoso D, et al. Agents of systemic and subcutaneous mucormycosis and entomophthoromycosis. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Guarro J, De Hoog GS. Bipolaris, Exophiala, Scedosporium, Sporothrix, and other melanized fungi. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Kauffman CA, Bustamante B, Chapman SW, et al. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2007;45:1255.

Micoses Sistêmicas Causadas por Fungos Dimórficos

Jane e Joan eram duas mulheres na faixa dos 30 anos, ávidas por atividades ao ar livre. Nos últimos 5 anos, elas foram estudar as cavernas no Missouri meridional, viajando como mochileiras no Wisconsin setentrional, e acamparam no Arizona. Mais recentemente, reformaram uma velha casa de fazenda na zona rural de Iowa e, no processo, tiveram de demolir um galinheiro ligado aos fundos da casa. Após 1 semana do processo, sofreram de uma doença "semelhante a um resfriado", e Jane desenvolveu tosse e dispneia. Procuraram atendimento médico na clínica de medicina familiar. Na clínica, Joan pareceu bem, porém observou-se que Jane estava bastante dispneica e parecia doente. O médico pensou que seria boa ideia realizar uma radiografia de tórax. Joan também obteve uma radiografia "só para garantir". Os resultados mostraram uma pneumonia bilateral difusa. Ainda que a radiografia de Joan não mostrasse pneumonia, observou-se que ela tinha um nódulo solitário no lobo superior direto.

- 1. A quais patógenos fúngicos dimórficos Jane e Joan se expuseram?
- 2. O que constitui um fungo dimórfico?
- 3. Exceto o dimorfismo, qual aspecto é comum a todas as micoses endêmicas?
- 4. Descreva os ciclos de vida dos patógenos dimórficos endêmicos.
- 5. Qual a causa que você suspeita ser da pneumonia de Jane? Como você faria o diagnóstico?
- 6. Como você trataria a pneumonia?
- 7. O que você acha que é responsável pelo nódulo pulmonar de Joan? Como você faria o diagnóstico? Como você a trataria? As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Blastomyces dermatitidis

Palavras-gatilho

Vale do Rio Mississippi, levedura de brotamento de base larga, saudáveis e imunocomprometidos, granuloma

Biologia, Virulência e Doença

- Fungo termodimórfico: grandes leveduras de brotamento não encapsuladas no tecido e em cultura a 37°C; formam colônias de fungo filamentoso em cultura a 25°C
- Via usual de infecção: inalação de conídios
- A gravidade dos sintomas e curso da doença depende da extensão da exposição e do estado imunológico do indivíduo exposto; a maioria é assintomática
- Forma clássica da blastomicose: envolvimento cutâneo crônico

Epidemiologia

- Nicho ecológico: matéria orgânica em decomposição
- Área de endemicidade: estados do sudeste e centrais do sul, especialmente na fronteira das bacias hidrográficas de Ohio e Mississipi; Estados do meio-oeste e províncias canadenses limítrofes dos Grandes Lagos; e uma área de Nova Iorque e Canadá ao longo do rio St. Lawrence
- Os surtos de infecção têm sido associados a contato ocupacional ou recreacional com o solo

Diagnóstico

- Detecção microscópica do fungo em tecido ou outro material clínico, com confirmação por cultura
- Detecção de antígeno e PCR

Tratamento, Prevenção e Controle

- Blastomicose pulmonar, em pacientes imunocomprometidos, e aqueles com doença pulmonar progressiva devem ser tratados
- Todos os pacientes com evidência de disseminação hematogênica requerem tratamento antifúngico

- Formulação lipídica de anfotericina B: tratamento de escolha para a doença meníngea e outras apresentações com risco de vida
- Doença leve ou moderada: itraconazol; fluconazol, posaconazol, voriconazol ou pode ser substituído por itraconazol

Coccidioides immitis e C. posadasii

Palavras-gatilho

Febre do Vale, granuloma coccidioide, artroconídios, esférula, teste cutâneo, teste de precipitina

Biologia, Virulência e Doença

- Coccidioidomicose causada por duas espécies indistinguíveis: C. immitis e C. posadasii
- C. immitis, localizada na Califórnia; C. posadasii, a maioria das infecções fora da Califórnia
- Doença causada pela inalação de artroconídios infecciosos
- Doença pulmonar assintomática ou subclínica, autolimitada, semelhante à gripe, aguda e crônica, disseminação simples ou multissistêmica
- Fungos dimórficos; endoesporulação de esférulas no tecido, fungo filamentoso em cultura a 25°C e na natureza

Epidemiologia

- Áreas endêmicas no sudoeste do deserto americano, norte do México, áreas dispersas da América Central e do Sul
- Organismo encontrado no solo; crescimento em ambiente estimulado por excrementos de morcegos e roedores; ciclos de seca/chuva aumentam a disseminação do organismo
- As pessoas ≥ 65 anos e aqueles com infecção pelo HIV afetados desproporcionalmente
- Risco de doença disseminada maior em determinados grupos étnicos (filipinos, afro-americanos, nativo-americanos, latino-americano), homens (9:1), as mulheres no terceiro trimestre da gravidez, indivíduos com deficiência imunológica celular, pessoas nos extremos de idade

Diagnóstico

- Exame histopatológico do tecido ou outro material clínico, isolamento de fungos em cultura, sorologia
- Exame histopatológico que revela esférulas endosporulantes no catarro, exsudato ou tecido é suficiente para estabelecer o diagnóstico
- Cultura a 25°C leva dias e representa risco para os trabalhadores de laboratório; todo o trabalho com fungo filamentoso deve ser realizado em cabine de segurança biológica adequada
- A sorologia (antígeno e anticorpo) pode ser útil para o rastreio inicial, confirmação ou avaliação do prognóstico

Tratamento, Prevenção e Controle

- A maioria dos indivíduos com infecção primária não necessita de terapia
- Para aqueles com fatores de risco concomitantes ou apresentação mais grave: formulação lipídica de anfotericina B seguida de um azólico oral como terapia de manutenção (doença grave)
- Doença pulmonar cavitária crônica: azólico por pelo menos 1 ano
- Infecções não meníngeas extrapulmonares disseminadas: azólico por via oral
- · Coccidioidomicose meníngea: fluconazol; itraconazol, posaconazol ou voriconazol são escolhas secundárias

Histoplasma capsulatum

Palavras-gatilho

Leveduras intracelulares, excrementos de pássaros e morcegos, galinheiros, cavernas, guano, granulomas

Biologia, Virulência e Doença

- Histoplasmose causada por duas variedades de Histoplasma capsulatum
- H. capsulatum var. capsulatum: causa infecções pulmonares e disseminadas
- H. capsulatum var. duboisii: provoca predominantemente lesões cutâneas e ósseas
- Doença causada pela inalação de microconídios infecciosos
- A gravidade dos sintomas e curso da doença dependem da extensão da exposição e estado imunológico do indivíduo infectado; a maioria é assintomática e autolimitada; doença semelhante à gripe também ocorre
- Fungo termodimórfico: fungo filamentoso hialino em natureza e em cultura a 25°C, levedura de brotamento em tecido (intracelular) e em cultura a 37°C

Epidemiologia

- *H. capsulatum* var. *capsulatum*: localizada nos vales dos rios Ohio e Mississipi; ocorre ao longo do México e América Central e do Sul
- *H. capsulatum* var. *duboisii*: confinado à África tropical (p.ex., Gabão, Uganda, Quênia)
- Encontrado em solo com elevado teor de nitrogênio (p.ex., áreas contaminadas com excrementos de pássaro ou morcegos)
- Os surtos da doença têm sido associados à exposição a abrigos de aves, cavernas e edifícios decadentes ou projetos de renovação urbana que envolvam escavação e demolição
- Indivíduos imunocomprometidos e crianças são mais propensos a desenvolver doença sintomática
- Reativação da doença e disseminação é comum entre os indivíduos imunodeprimidos, especialmente aqueles com AIDS

Diagnóstico

- Microscopia direta, cultura de material clínico, sorologia (antígeno e anticorpo), β-d-glucano e de PCR têm sido úteis
- Fase de levedura do organismo pode ser detectada no catarro, lavado broncoalveolar, filmes de sangue periférico, medula óssea e tecido corado com colorações de Giemsa, GMS ou PAS
- As culturas devem ser manipuladas em cabine de segurança biológica
- Diagnóstico sorológico utiliza testes para o anticorpo e antígeno

Tratamento, Prevenção e Controle

- Infecções agudas graves: formulação lipídica de anfotericina B seguida de itraconazol via oral
- Histoplasmose pulmonar crônica: formulação lipídica de anfotericina B seguida de itraconazol
- Infecção disseminada: formulação lipídica de anfotericina B seguida de itraconazol

Paracoccidioides brasiliensis

Palavras-gatilho

Roda de leme, blastomicose sul-americana, úlcera, brotamentos múltiplos

Biologia, Virulência e Doença

- Fungo termodimórfico: fase de fungo filamentoso de crescimento lento na natureza e a 25°C, a fase de levedura (de tamanho variável com botões simples ou múltiplos) em tecido e cultura a 37°C
- Via usual de infecção é a inalação ou possível inoculação traumática de conídios ou fragmentos de hifas
- A paracoccidioidomicose pode ser subclínica ou progressiva, com formas pulmonares agudas ou crônicas ou formas disseminadas aguda, subaguda ou crônica

Epidemiologia

- Endêmicas em toda a América Latina, áreas de alta umidade, vegetação rica, temperaturas moderadas, solo ácido
- Nicho ecológico não está bem estabelecido
- Doença evidente incomum entre crianças e adolescentes; em adultos, a doença é mais comum em homens com idades entre 30 a 50 anos
- A maioria dos pacientes com doença clinicamente aparente vivem em áreas rurais e têm contato próximo com o solo
- Não há relatos de epidemias ou de transmissão pessoa a pessoa

Diagnóstico

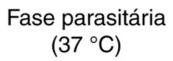
- Demonstração de formas de leveduras características no exame microscópico de material clínico: oval a redonda com paredes refratárias duplas e brotamentos únicos ou múltiplos; morfologia "roda de leme"
- Pode ser isolado em cultura e deve ser manipulado em cabine de segurança biológica
- Testes de sorologia podem ajudar na sugestão de diagnóstico, avaliação da resposta à terapia

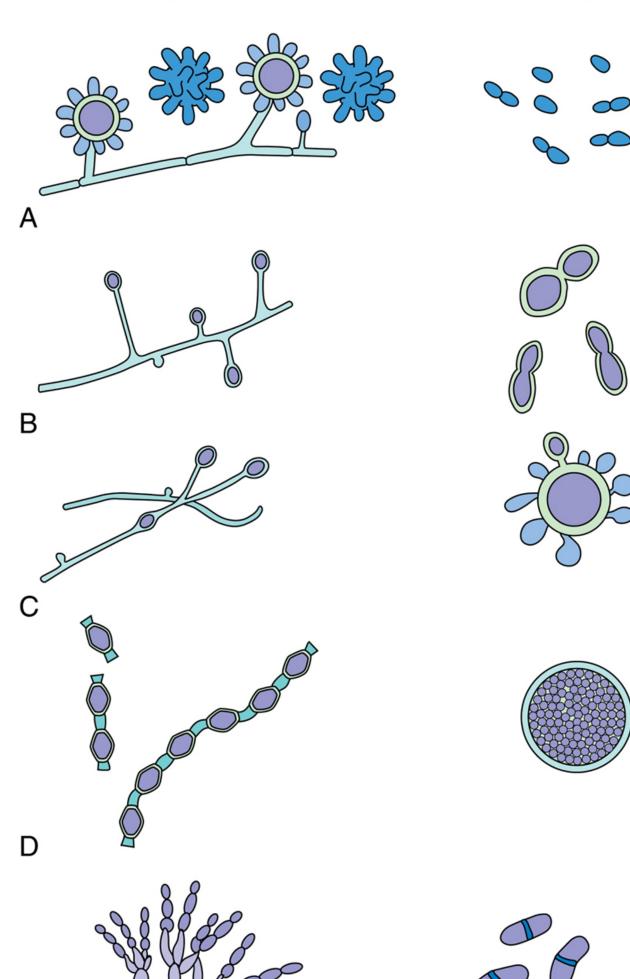
Tratamento, Prevenção e Controle

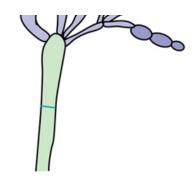
- Itraconazol: tratamento de escolha para a maioria das formas da doença
- As formas mais graves ou refratárias: formulação lipídica de anfotericina B seguida de terapia de itraconazol ou sulfonamida

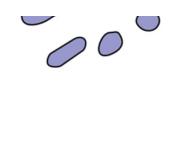
Os fungos dimórficos são organismos que existem na forma de fungo filamentoso na natureza ou em laboratório, quando cultivados entre 25° e 30°C e na forma de levedura ou esférula em tecido, ou quando cultivados em meios enriquecidos em laboratório a 37°C (Fig. 64-1). A maioria dos organismos nesse grupo são considerados patógenos sistêmicos primários devido às suas habilidades em causar infecção em hospedeiros "normais" e imunocomprometidos e por suas propensões a envolver as vísceras após a disseminação do fungo a partir dos pulmões depois de sua inalação da natureza. Os patógenos sistêmicos dimórficos incluem Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis e Coccidioides posadasii, Histoplasma capsulatum var. capsulatum, H. capsulatum var. duboisii, Paracoccidioides brasiliensis e Talaromyces (anteriormente Penicillium) marneffei (Tabela 64-1). Esses organismos também são conhecidos como patógenos endêmicos, uma vez que seu habitat natural é delimitado a regiões geográficas específicas (Fig. 64-2), e a infecção causada por tais fungos particulares é adquirida pela inalação de esporos daquele ambiente específico e localização geográfica (Tabela 64-1). H. capsulatum, C. immitis (C. posadasii) e T. marneffei emergiram como principais patógenos oportunistas em pessoas com AIDS e outras formas de imunossupressão. O reconhecimento dessas micoses endêmicas pode ser dificultado pelo fato de que elas podem se manifestar apenas após o paciente ter deixado a área endêmica. Muitas vezes, a infecção pode ser quiescente e reativar só quando o paciente se tornar imunossuprimido e vivendo em uma área onde o fungo não é endêmico. Além desses patógenos dimórficos, um relatório recente da África do Sul sugere que uma nova espécie de Emmonsia relacionada com o fungo dimórfico Emmonsia pasteuriana pode ser um patógeno dimórfico emergente em indivíduos com infecção pelo HIV em estágio avançado.

Fase saprófita (25 °C)









Ε

FIGURA 64-1 Fase saprófita e parasitária dos fungos dimórficos endêmicos. A, Histoplasma capsulatum; B, Blastomyces dermatitidis; C, Paracoccidioides brasiliensis; D, Coccidioides immitis; E, Talaromyces marneffei



Características das Micoses Dimórficas Endêmicas

Micose	Etiologia	Ecologia	Distribuição Geográfica	Morfologia no Tecido	Manifestações Clínicas
Blastomicose	Blastomyces dermatitidis	Material orgânico em decomposição	América do Norte (vales dos rios Ohio e Mississipi), África	Leveduras com brotamento de base larga (8– 15 µm de diâmetro)	Doença pulmonar (< 50%), extrapulmonar: pele, osso, sistema genitourinário, sistema nervoso central. Doença disseminada em pacientes imunocomprometidos
Coccidioidomicose	Coccidioides immitis Coccidioides posadasii	Solo, poeira	Sudeste dos Estados Unidos, México, Américas Central e do Sul	Esférulas (20– 60 µm) contendo endósporos (2– 4 µm)	Infecção pulmonar assintomática (60%) no hospedeiro normal. Infecção pulmonar progressiva e disseminação (pele, osso, articulações, meninges) nos pacientes imunocomprometidos
Histoplasmose capsulati	Histoplasma capsulatum var. capsulatum	Solo com alto conteúdo de nitrogênio (excrementos de pássaros/morcegos)	América do Norte (vales dos rios Ohio e Mississipi), México, Américas Central e do Sul	Leveduras pequenas, ovais (2–4 µm) com brotamentos de base estreita (intracelulares)	Infecção pulmonar assintomática (90%) no hospedeiro normal e exposição de pouca intensidade. Doença disseminada no hospedeiro imunocomprometido e em crianças
Histoplasmose duboisii	Histoplasma capsulatum var. duboisii	Solo com alto conteúdo de nitrogênio	Áreas tropicais da África	Leveduras maiores (8–15 µm) com parede espessa com brotamento; istmo proeminente e cicatriz no brotamento	Baixa frequência de doença pulmonar; frequência maior de envolvimento ósseo e cutâneo
Paracoccidioidomicose	Paracoccidioides brasiliensis	Provavelmente associado ao solo	Américas do Sul e Central	Leveduras com parede fina a moderadamente espessa com vários brotamentos (15–30 µm; roda de leme)	Doença pulmonar autolimitada; infecção pulmonar progressiva e disseminação (pele, mucosa, ossos, linfonodos, vísceras e meninges); mais comum em crianças e pacientes imunocomprometidos
Talaromicose marneffei	Talaromyces marneffei	Solo, rato do bambu	Sudeste asiático	Leveduras globosas a alongadas em forma de salsicha (3– 5 µm) que são intracelulares e se dividem por fissão	Infecção disseminada (pele, tecidos moles, vísceras) mais comum naqueles com AIDS. Parecida com histoplasmose, criptococose ou tuberculose

Modificada de Anstead GM, Patterson TF: Endemic mycoses. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone.

AIDS, Síndrome da imunodeficiência adquirida.

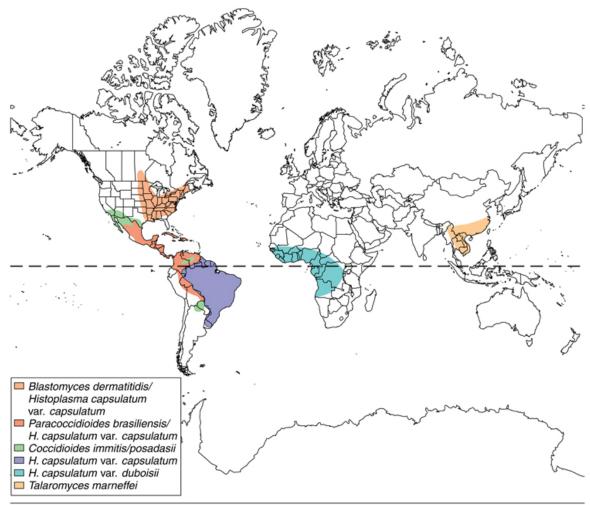


FIGURA 64-2 Distribuição regional geográfica das principais micoses endêmicas.

Blastomicose

A blastomicose (Caso Clínico 64-1) é uma infecção fúngica causada pelo fungo dimórfico *Blastomyces dermatitidis*. Como outras micoses endêmicas, essa infecção é confinada a regiões geográficas específicas; muitas infecções se originam na bacia do rio Mississipi, em torno dos Grandes Lagos, e na região sudeste dos Estados Unidos (Fig. 64-2). Os casos também têm sido diagnosticados em outras partes do mundo, incluindo África, Europa e Oriente Médio.



Caso Clínico 64-1 Blastomicose do Sistema Nervoso Central (SNC)

Buhari et al. (*Infect Med* 24[Suppl 8]:12–14, 2007) reportaram um caso de blastomicose do sistema nervoso central (SNC). Um paciente masculino, desabrigado, de 56 anos, de Detroit, apresentou-se com histórico de 2 semanas de hemiparesia esquerda, afasia e cefaleia generalizada. Não havia histórico de erupção, sintomas respiratórios ou febre. Seu histórico clínico era significativo para craniotomia esquerda realizada há 30 anos para hemorragia intracranial causada por trauma. Ele vivia em um prédio abandonado e não estava utilizando qualquer medicamento. No exame, tinha expressiva afasia, novo início de hemiparesia esquerda e sopro carotídeo bilateral. O restante do exame físico não era relevante, assim como a rotina bioquímica e parâmetros hematológicos. Ele era negativo para pesquisa de anticorpos contra HIV. A radiografia de tórax não era relevante. Uma tomografia computadorizada contrastada de crânio demonstrou várias lesões anulares aumentadas no lado direito do cérebro, circundadas por edema vasogênico e desvio da linha média; significativa encefalomalácia e atrofia generalizada estavam presentes no lado esquerdo do cérebro.

A pesquisa de antígenos no soro e urina para *Cryptococcus* (soro) e *Histoplasma* (soro e urina) foi negativa. Testes cutâneos para tuberculina foram negativos, e estudos de imagem de seios nasais, tórax e abdome não foram relevantes. Uma biópsia de cérebro foi realizada, e exame histopatológico revelou inflamação granulomatosa, células em brotamento compatível com *Blastomyces dermatitidis*. Subsequente cultura confirmou o diagnóstico de blastomicose do sistema nervoso central. O paciente foi tratado com dexametasona e anfotericina B, mas desenvolveu hipertensão e bradicardia com subsequente parada cardiorrespiratória e óbito.

Esse é um exemplo de uma apresentação incomum de blastomicose do sistema nervoso central sem qualquer evidência de doença disseminada. A síndrome clínica de hipertensão, bradicardia e parada cardiorrespiratória sugere que o paciente morreu em decorrência do aumento da pressão intracraniana, como complicação da infecção ou biópsia do cérebro.

Morfologia

Como um fungo dimórfico, *B. dermatitidis* produz células leveduriformes não encapsuladas no tecido e em cultura em meio enriquecido a 37°C, e colônias de fungo filamentoso branco a acastanhado em meio micológico padrão a 25°C. Em sua forma filamentosa, produz conídios arredondados a ovais ou em forma de pera (2 a 10 µm) localizados em hifas terminais longas ou curtas (Fig. 64-3). As culturas mais velhas também podem produzir clamidoconídios de paredes espessas de 7 a 18 µm de diâmetro. Essa forma de *B. dermatitidis* não é diagnóstica e pode não ser distinguível de *Chrysosporium* spp. monomórficas ou de uma cultura inicial de *H. capsulatum*.



FIGURA 64-3 Fase de fungo filamentoso de Blastomyces dermatitidis.

A forma de levedura de *B. dermatitidis* é vista no tecido e em cultura a 37°C. Tal forma é bastante distinta (Fig. 64-4). As células leveduriformes são esféricas, hialinas, de 8 a 15 μm de diâmetro, multinucleadas e com paredes espessas e de contorno duplo. O citoplasma é frequentemente retraído da parede celular rígida como resultado do encolhimento durante o processo de fixação. As células leveduriformes se reproduzem pela formação de brotamentos ou **blastoconídios**. Esses brotamentos são, em geral, únicos e ligados à célula-mãe por base larga (Fig. 64-4).



FIGURA 64-4 Coloração de Giemsa de *Blastomyces dermatitidis* mostrando leveduras com brotamento de base larga.

As formas de leveduras podem ser visualizas no tecido corado com hematoxilina e eosina (H&E); entretanto, os corantes fúngicos de metenamina prata de Gomori (GMS) e ácido periódico de Schiff (PAS) ajudam a localizar os organismos e delinear suas morfologias.

Epidemiologia

O nicho ecológico de *B. dermatitidis* parece ser matéria orgânica em decomposição. Estudos em humanos e nos animais indicam que a infecção é adquirida após a inalação de conídios aerossolizados produzidos pelo fungo que está crescendo no solo e nos detritos de folhas (Fig. 64-5). Os surtos de infecção têm sido associados a contato ocupacional e recreacional com o solo, e os indivíduos infectados incluem todas as idades e ambos os sexos. Um grande surto recente da blastomicose em Wisconsin foi marcado por aglomeração tanto geográfica como étnica, com um número desproporcional de infecções ocorrendo em pessoas de etnia Hmong, sugerindo uma possível predisposição genética à infecção por esse fungo. A blastomicose não é transmitida de paciente para paciente; todavia, tem sido reportada a blastomicose cutânea primária e pulmonar, adquirida em laboratório.

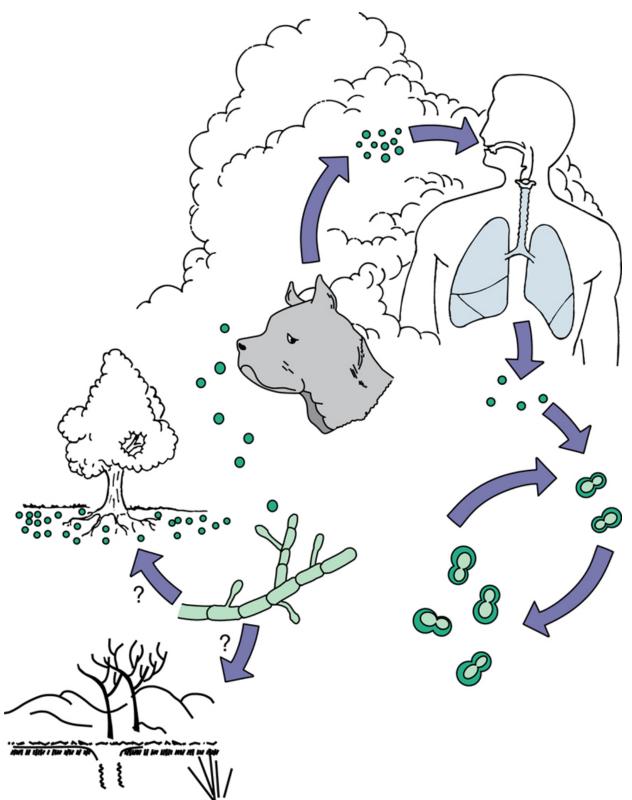


FIGURA 64-5 História natural do ciclo do fungo filamentoso (saprófita) e da levedura (parasita) de *Blastomyces dermatitidis*.

Na América do Norte, a área de endemicidade se sobrepõe à da histoplasmose (Fig. 64-2) e inclui os estados do sudeste e do centro-sul, especialmente aqueles com limites nas bacias dos rios Ohio e Mississippi; os Estados do meio-oeste e as províncias canadenses com limites dos Grandes Lagos; e uma área em Nova Iorque e Canadá junto ao rio St. Lawrence. A blastomicose é também endêmica na África. Estima-se que de um a dois casos de blastomicose sintomática que necessitam de terapia ocorram por 100 mil habitantes por ano em áreas com doença endêmica. Entre os animais, os cães são mais suscetíveis; estima-se que a frequência de infecção seja 10 vezes maior que no homem.

Síndromes Clínicas

A via comum de infecção na blastomicose é a inalação de conídios (Fig. 73-5). Como na maioria das micoses endêmicas, a gravidade dos sintomas e o curso da doença são dependentes da extensão de exposição e do grau de imunidade do hospedeiro. Baseada amplamente nos estudos dos surtos de blastomicose, parece que a doença sintomática ocorre em menos da metade das pessoas infectadas. A doença clínica causada por *B. dermatitidis* pode se apresentar como doença pulmonar ou extrapulmonar

disseminada. Entre aqueles pacientes com disseminação extrapulmonar, dois terços exibem envolvimento da pele e dos ossos. Outros locais de disseminação hematogênica incluem próstata, fígado, baço, rim e sistema nervoso central.

A blastomicose pulmonar pode ser assintomática ou se apresentar como doença branda semelhante ao resfriado. A infecção mais grave lembra a pneumonia bacteriana com início agudo, febre alta, infiltrados lobulares e tosse. Pode ocorrer progressão para a síndrome do desconforto respiratório fulminante do adulto, com febre alta, infiltrados difusos e insuficiência respiratória. A forma respiratória subaguda ou crônica da blastomicose pode lembrar a tuberculose ou o câncer de pulmão, com padrão radiológico de lesões de massa pulmonar ou infiltrados fibronodulares.

Uma forma clássica de blastomicose é a de envolvimento cutâneo crônico. A forma cutânea da blastomicose é quase sempre o resultado da disseminação hematogênica do pulmão; em muitos casos, sem lesões pulmonares evidentes ou sintomas sistêmicos. As lesões podem ser papulares, pustulares ou indolentes, ulcerativas nodulares e verrucosas com superfícies encrostadas e margens com contornos elevados. São geralmente indolores e estão localizadas em áreas expostas, como face, couro cabelo, pescoço e mãos. Podem ser confundidas com carcinoma de células epiteliais escamosas. Na ausência de tratamento, a blastomicose cutânea tem um curso crônico, com remissões, exacerbações e aumento gradual no tamanho das lesões.

A blastomicose é relativamente incomum entre pessoas com AIDS ou outras condições imunossupressoras. Todavia, quando ocorre nesses indivíduos, ela tende a ser aguda, envolvendo o sistema nervoso central, e com um pior prognóstico.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da blastomicose baseia-se na detecção microscópica do fungo no tecido ou outro material clínico e com confirmação pela cultura (Tabela 64-2). As amostras mais adequadas para o diagnóstico da blastomicose pulmonar incluem escarro, lavado broncoalveolar ou biópsia de pulmão. O exame direto deve ser realizado de material corado com GMS, PAS, Papanicolaou ou Giemsa. Dessa mesma maneira, preparados a fresco de escarro, líquido cefalorraquidiano, urina, pus, escamas de pele e esfregaços de tecido podem ser examinados diretamente utilizando calcoflúor e microscopia de fluorescência para detectar as formas características de leveduras. Quando células leveduriformes com típicos brotamentos de base larga estiverem presentes, o diagnóstico definitivo poderá ser feito.



Tabela 64-2

Diagnóstico das Micoses Endêmicas Dimórficas

		Morfologia na C	ultura		
Micose	Cultura	25°C	37°C	Histopatologia	Sorologia
Blastomicose	Escarro, LBA, tecido pulmonar, biópsia de pele, LCR	Fungo filamentoso com conídios arredondados a ovais ou em forma de pera (2–10 µm de diâmetro)	Leveduras de parede espessa com brotamentos de base larga (8– 15 µm)	Leveduras com brotamentos de base larga	Anticorpo: FC, ID, EIA (baixas sensibilidade e especificidade) Antígeno: urina (desempenho indefinido)
Coccidioidomicose	Escarro, LBA, tecido, LCR	Fungo filamentoso com artroconídios em forma de barril (3–6 μm)	NA	Esférulas (20– 60 µm) contendo endósporos	Anticorpo: TP, FC, ID, PL (diagnóstico e prognóstico) Antígeno: urina (desempenho indefinido)
Histoplamose (H. capsulatum)	Escarro, LBA, sangue, medula óssea, tecido, LCR	Fungo filamentoso com macroconídios tuberculados (8–15 µm) e microconídios pequenos e ovais 2–4 µm)	Leveduras pequenas com brotamento (2–4 µm)	Leveduras intracelulares com brotamentos	Anticorpo: FC, ID Antígeno: soro e urina (92% de sensibilidade em doença disseminada)
Paracoccidioidomicose	Escarro, LBA, tecido	Fungo filamentoso com microconídios arredondados (2–3 µm) e clamidósporos intercalados	Leveduras grandes com múltiplos brotamentos (15– 30 µm)	Leveduras grandes com múltiplos brotamentos	Anticorpo: ID, FC (especificidade variável; FC útil para monitoramento da resposta)
Talaromicose marneffei	Sangue, medula óssea, tecido, LCR	Fungo filamentoso com pigmento vermelho difusível. Conidióforos terminando em penicillus (pincel) evidente sustentando conídios lisos e elipsoidais	Leveduras pleomórficas alongadas (1– 8 µm) com septos transversais	Leveduras intracelulares alongadas com septos transversais	Em desenvolvimento

EIA, Ensaio imunoenzimático; FC, fixação do complemento; ID, imunodifusão; LBA, lavado broncoalveolar; LCR, líquido cefalorraquidiano; NA, não aplicável; PL, aglutinação da partícula de látex; TP, precipitinas em tubo.

Deve ser realizada cultura do material clínico em meio micológico seletivo e não seletivo, ambos incubados entre 25° e 30°C e a 37°C. A forma filamentosa do fungo é facilmente cultivada entre 25°C e 30°C; contudo, o crescimento é lento, necessitando, muitas vezes, de 4 semanas ou mais. A forma filamentosa (Fig. 64-3) não é diagnóstica, e a identificação deve ser confirmada pela conversão para a forma de levedura a 37°C, pelo teste do exoantígeno (detecção imunológica do antígeno A liberado pela célula), ou por hibridização com sonda de ácido nucleico. Deve-se tomar cuidado para manusear a cultura em cabine de biossegurança apropriada, pois os conídios são infecciosos.

Embora os testes sorológicos para detectar os anticorpos direcionados aos antígenos de B. dermatitidis estejam disponíveis (Tabela 64-2), não são sensíveis e específicos e são de pouca utilização no diagnóstico. O teste para detectar o antígeno no soro e na urina está comercialmente disponível, porém é possível uma reação cruzada com outras micoses endêmicas e não está claro qual papel tal teste desempenha no diagnóstico. Detecção de $(1\rightarrow 3)$ - β -d-glucano (BDG) sérico não demonstrou ser útil no diagnóstico de blastomicose, ao passo que a reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) tem valor quando realizada no sangue, tecidos ou amostras respiratórias.

Tratamento

A decisão de tratar pacientes com blastomicose deve levar em consideração a forma clínica, a gravidade da doença, a condição imune do paciente e a toxicidade dos agentes antifúngicos. Sem dúvida, a blastomicose pulmonar em pacientes imunocomprometidos e naqueles com doença pulmonar progressiva deve ser tratada. Dessa maneira, todos os pacientes com evidência de disseminação hematogênica (p.ex., pele, osso, todos os pontos extrapulmonares) requerem terapia antifúngica. A anfotericina B, preferencialmente em formulação lipídica, é o agente de escolha no tratamento de doença meníngea ou com risco de vida. A doença branda ou moderada pode ser tratada com itraconazol. O fluconazol, posaconazol ou voriconazol podem ser alternativas àqueles pacientes incapazes de tolerar o itraconazol. Dependendoda gravidade da doença e da condição do hospedeiro, os índices de sucesso terapêutico com anfotericina B ou terapia com azólicos variam de 70% a 95%. A sobrevida dos pacientes com AIDS e outros pacientes imunocomprometidos é aproximadamente metade desse número. Esses últimos podem necessitar de terapia imunossupressora de longo prazo com itraconazol, em uma tentativa de evitar a reincidência da infecção.

Coccidioidomicose

A coccidioidomicose (Caso Clínico 64-2) é uma micose endêmica causada por qualquer uma de duas espécies indistinguíveis, *C. immitis* e *C. posadasii*. A doença é causada pela inalação de artroconídios infecciosos (Fig. 64-6),podendo variar de uma infecção assintomática (na maioria das pessoas) a uma infecção progressiva e morte. As duas espécies diferem em distribuição geográfica e genótipo: *C. immitis* está localizado na Califórnia, e *C. posadasii* é responsável pela maioria das infecções fora da Califórnia. Afora essas diferenças, parece não haver outra adicional no fenótipo ou na patogenicidade. Como tal, o nome mais familiar *C. immitis* será utilizado neste capítulo.



Caso Clínico 64-2 Coccidioidomicose

Stafford et al. (Infect Med 24[Suppl 8]:23-25, 2007) descreveram o caso de um soldado do exército americano, afro-americano e com 31 anos, que apresentava febre, calafrios, sudorese noturna e tosse não produtiva de 4 semanas. Ele recentemente detectou uma massa indolor no tórax direito. Seu histórico médico não foi relevante. Estava lotado no Forte Irwin, Califórnia, onde trabalhava na manutenção de telefone. O exame físico não era relevante, exceto por uma massa firme, dura, subcutânea, de 3 cm sobrejacente ao peito direto. Múltiplos e pequenos (< 1 cm) linfonodos duros eram palpáveis na axila e região inguinal. Estudos laboratoriais revelaram uma contagem de células brancas de 11,9/µl, com 30% de eosinófilos. Análise bioquímica do soro apresentava elevação nos níveis de fosfatase alcalina. Resultados de hemocultura, teste para pesquisa de antígeno de Cryptococcus no soro, antígeno de Histoplasma na urina e anticorpos contra HIV eram negativos, assim como o teste cutâneo à tuberculina. A radiografia de tórax mostrou micronódulos intersticiais bilaterais, com padrão miliar, assim como a região paratraqueal direita cheia. Tomografia computadorizada (TC) do tórax confirmou a presença difusa de micronódulos de 1 a 2 mm em todos os lobos. A TC também mostrou uma lesão lobular parenquimatosa no lobo médio direito e uma massa na parede torácica direita. O aspirado com agulha fina da massa direta do tórax revelou esférulas preenchidas com endósporos, compatíveis com coccidioidomicose. Na cultura do material, cresceu Coccidioides immitis. O painel sorológico para C. immitis era positivo e revelou título de IgG em fixação de complemento maior que 1:256. A análise do líquido cefalorraquidiano estava normal, mas a tomografia óssea revelou várias regiões de atividade osteoblástica aumentada, envolvendo a escápula esquerda, quinta vértebra direita anterior e região vertebral média torácica. O tratamento foi iniciado com anfotericina B, mas o aumento da cervicalgia levou à solicitação de novas imagens, que demonstraram uma lesão lítica de vértebra C1 e uma massa paravertebral. Apesar da terapia antifúngica, o aumento progressivo da massa necessitou desbridamento cirúrgico. O paciente continuou o tratamento com formulações lipídicas de anfotericina B, com planos de longo prazo, talvez contínuos, de terapia antifúngica.

Este é o exemplo de um sério problema causado pela coccidioidomicose. Os indícios para o diagnóstico da coccidioidomicose nesse paciente devem incluir os primeiros sintomas da infecção, eosinofilia periférica, linfadenopatia hilar, padrão característico do envolvimento do órgão (pulmão, osso e tecidos moles), residência em área endêmica e etnia afroamericana (maior grupo de risco para disseminação).

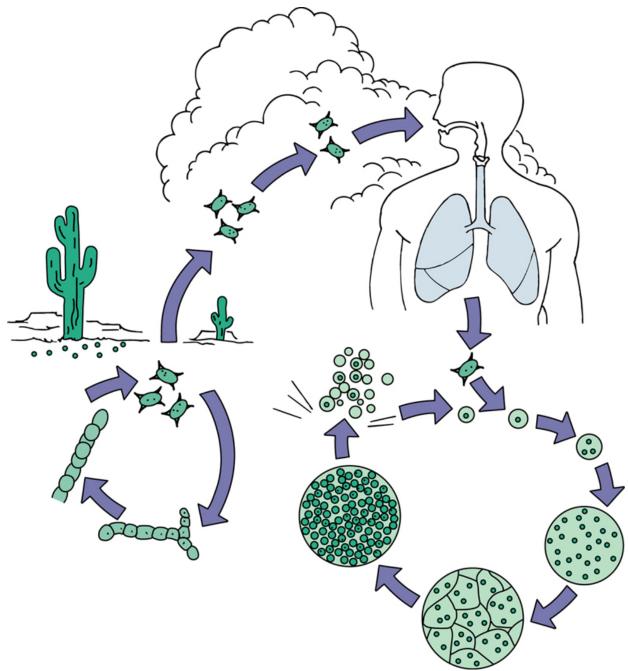


FIGURA 64-6 História natural do ciclo do fungo filamentoso (saprófita) e da esférula (parasita) de Coccidioides immitis.

Como a sífilis e a tuberculose, a coccidioidomicose causa uma ampla variedade de lesões e tem sido denominada de "o grande imitador". Os sinônimos de coccidioidomicose incluem **granuloma coccidioid**e e **febre do Vale de São Joaquim**, entre outros.

Morfologia

C. immitis (*C. posadasii*) é um fungo dimórfico que existe como um fungo filamentoso na natureza e quando cultivado no laboratório a 25°C, como esférula endosporulada no tecido e sob condições muito específicas *in vitro* (Figs. 64-7 e 64-8;Tabela 64-2 e Fig. 64-1). Uma variedade morfológica do fungo filamentoso pode ser vista em cultura a 25°C. O crescimento inicial é branco a cinza, úmido, glabroso e ocorre de 3 a 4 dias. Desenvolve rapidamente micélio aéreo abundante, e a colônia aumenta em uma "florescência" circular. As colônias maduras se tornam, geralmente, acastanhadas a marrons ou lavanda.

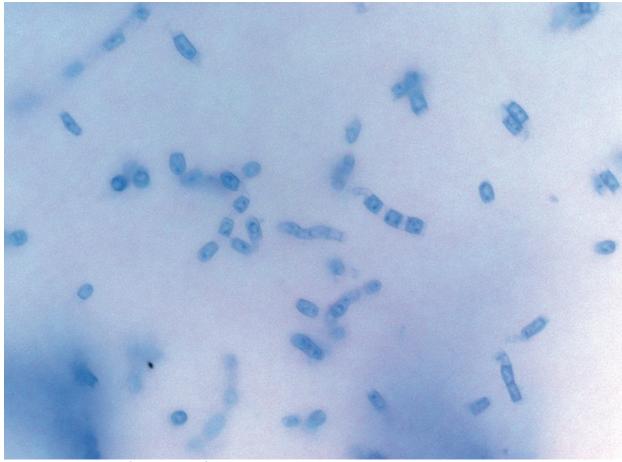


FIGURA 64-7 Fase filamentosa de Coccidioides immitis.

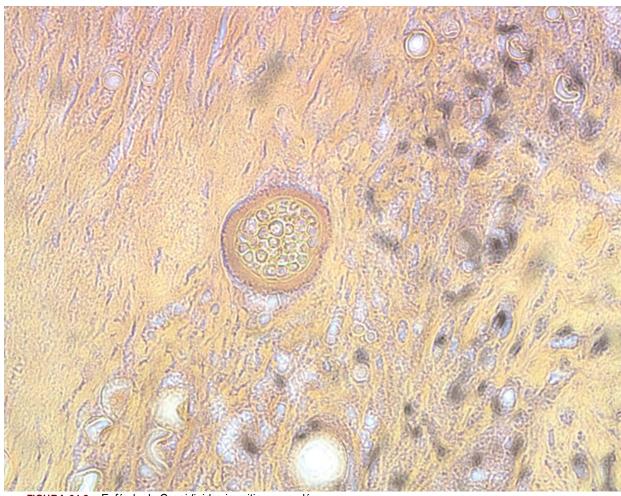


FIGURA 64-8 Esférula de Coccidioides immitis com endósporos.

Microscopicamente, as hifas vegetativas dão origem a hifas férteis que produzem alternadamente (separadas por células disjuntoras) artroconídios hialinos (Fig. 64-7). Quando liberados, os conídios infecciosos têm tipicamente forma de "barril" e têm uma gola anular em ambas as terminações. Com o envelhecimento da cultura, as hifas vegetativas também se fragmentam em artroconídios.

Uma vez inalados, os artroconídios (2,5 a 4 μ m de diâmetro) se tornam arredondados e se convertem em esférulas no pulmão (Fig. 64-8). Na maturidade, as esférulas (20 a 60 μ m de diâmetro) produzem endósporos por um processo conhecido como **clivagem progressiva**. O rompimento das paredes da esférula libera endósporos, que, um após outro, formam novas esférulas (Fig. 73-6). Em cerca de 10% a 30% das cavidades pulmonares associadas à coccidioidomicose, podem ser produzidos hifas ramificadas septadas e artroconídios.

Epidemiologia

A coccidioidomicose é endêmica no sudoeste desértico dos Estados Unidos, norte do México e em áreas dispersas das Américas Central e do Sul (Fig. 64-2). *C. immitis* é encontrado no solo e o fungo no ambiente é intensificado pelas fezes de morcegos e roedores. A exposição aos artroconídios infecciosos é maior no final do verão e outono, quando há uma quantidade de pequenas partículas que se depositam a partir da suspensão pelo ar (poeira). O ciclo de estiagem e chuvas intensifica a dispersão do organismo, pois as chuvas intensas facilitam seu crescimento nos resíduos nitrogenosos do solo, e condições subsequentes de estiagem e ventos favorecem a aerossolização dos artroconídios (Fig. 64-6). A aquisição da coccidioidomicose ocorre, principalmente, pela inalação dos artroconídios, e os índices de infecção em áreas endêmicas podem ser de 16% a 42% no início da fase adulta. A incidência da coccidioidomicose é em torno de 15 casos por 100 mil habitantes anualmente, em área endêmica; entretanto, sabe-se que afeta desproporcionalmente pessoas com 65 anos ou mais velhas (≈ 36 por 100 mil) e aquelas com infecção por HIV (≈ 20 por 100 mil).

Síndromes Clínicas

C. immitis é, provavelmente, o mais virulento de todos os patógenos fúngicos que afetam o homem. A inalação de poucos artroconídios produz a coccidioidomicose primária, que pode incluir doença pulmonar assintomática (≈ 60% dos pacientes) ou uma doença autolimitada semelhante ao resfriado, com sintomas de febre, tosse, dor torácica e perda de peso. Os pacientes com coccidioidomicose primária podem ter uma variedade de reações alérgicas (≈ 10%) como resultado da formação de imunocomplexo, incluindo erupção macular eritematosa, eritema multiforme e eritema nodoso.

A doença primária se resolve geralmente sem terapia e confere uma imunidade forte e específica à reinfecção, que é detectada pelo teste cutâneo de coccidioidina. Em pacientes sintomáticos por 6 semanas ou mais, a doença progride para a coccidioidomicose secundária, que pode incluir nódulos, doença cavitária, ou doença pulmonar progressiva (5% dos casos); disseminação única ou sistêmica segue em aproximadamente 1% dessa população. Os pontos extrapulmonares da infecção incluem pele, tecidos moles, ossos, articulações e meninges. Pessoas de certos grupos étnicos (p.ex., filipinos, afro-americanos, americanos nativos, hispânicos) correm um alto risco de disseminação, sendo o envolvimento meníngeo a sequela comum (Tabela 64-3). Além do aspecto étnico, homens (9:1), mulheres no terceiro trimestre de gravidez, pessoas com imunodeficiência (p.ex., AIDS, transplantados de órgão, pacientes tratados com antagonista do fator de necrose tumoral [TNF]) e pessoas com idade avançada apresentam alto risco à doença disseminada (Tabela 64-3). A mortalidade na doença disseminada excede 90% sem tratamento, e a infecção crônica é comum.



Tabela 64-3

Fatores de Risco para Coccidioidomicose Disseminada

Fator de Risco	Maior Risco
Idade	Lactentes e idosos
Sexo	Masculino
Genética	Filipinos > afro-americanos > nativos americanos > hispânicos > asiáticos
Título de anticorpo FC sérico	>1:32
Gravidez	Final da gestação e pós-parto
Teste cutâneo	Negativo
Imunidade mediada por célula deprimida	Malignidade, quimioterapia, tratamento com corticosteroides, infecção por HIV

De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: Infectious diseases, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.

FC, Fixação do complemento; HIV, vírus da imunodeficiência humana.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da coccidioidomicose envolve a utilização de exame histopatológico do tecido ou outro material clínico, isolamento do fungo em cultura e teste sorológico (Tabela 64-2). A visualização por microscopia direta das esférulas endoesporuladas no escarro, exsudatos ou tecido é suficiente para estabelecer o diagnóstico (Fig. 64-8) e é preferida em relação à cultura devido à natureza altamente infecciosa do fungo filamentoso na cultura. Os exsudatos clínicos devem ser examinados diretamente em

hidróxido de potássio (KOH) de 10% a 20% com calcoflúor branco, e o tecido da biópsia pode ser corado com H&E ou corantes fúngicos específicos como GMS e PAS (Fig. 64-8).

As amostras clínicas podem ser cultivadas em meio micológico de rotina a 25°C. As colônias de *C. immitis* se desenvolvem de 3 a 5 dias, e a esporulação típica pode ser vista em 5 a 10 dias. Devido à natureza altamente infecciosa do fungo, todas as placas ou tubos devem ser selados utilizando-se fita gás permeável (placas) ou tampa de rosca (tubos) e examinadas apenas em cabine de biossegurança apropriada. A identificação de *C. immitis* em cultura pode ser realizada pela utilização do teste de imunodifusão através do exoantígeno ou da hibridização do ácido nucleico. A conversão do fungo filamentoso em esférulas *in vitro* não é em geral realizada fora do ambiente de pesquisa.

Existem vários procedimentos sorológicos para uma triagem inicial, confirmação ou avaliação prognóstica (Tabela 64-2). Para o diagnóstico inicial, a utilização combinada do teste de imunodifusão e o teste de aglutinação da partícula de látex detecta aproximadamente 93% dos casos. Os testes de fixação do complemento e precipitina em tubo também podem ser utilizados para o diagnóstico e prognóstico. Exames prognósticos frequentemente utilizam títulos de fixação do complemento; títulos crescentes são um sinal de mau prognóstico, e títulos decrescentes indicam melhora. Um teste de antígeno urinário coccidiódico foi desenvolvido, mas a sua sensibilidade relativamente baixa de 71% limita a sua utilidade clínica. Nem os testes BDG nem PCR demonstraram ser mais úteis que a cultura para o diagnóstico de coccidioidomicose.

Tratamento

A maioria das pessoas com coccidioidomicose primária não necessita de terapia antifúngica específica. Para aqueles com fatores de risco simultâneos (Tabela 64-3), como transplante de órgão, infecções por HIV ou altas doses de corticosteroides, ou quando é evidente a infecção excepcionalmente grave, o tratamento é necessário. A coccidioidomicose primária no terceiro trimestre de gravidez ou durante o imediato período pós-parto requer o tratamento com uma formulação lipídica de anfotericina B.

Os pacientes imunossuprimidos ou com pneumonia difusa devem ser tratados com uma formulação lipídica de anfotericina B seguida de um azólico (fluconazol, itraconazol, posaconazol ou voriconazol) como terapia de manutenção. A duração total da terapia deve ser de, pelo menos, 1 ano. Os pacientes imunocomprometidos devem ser mantidos com um azólico via oral como profilaxia secundária.

A pneumonia cavitária crônica deve ser tratada com um azólico via oral por pelo menos 1 ano. Nos casos em que a resposta é inadequada, as alternativas são trocar para outro azólico (p.ex., do itraconazol para fluconazol), aumentar a dose do azólico no caso do fluconazol, ou trocar para anfotericina B lipídica. O tratamento cirúrgico é necessário no caso de rompimento de uma cavidade no espaço pleural, hemoptise, ou lesões refratárias localizadas.

O tratamento das infecções disseminadas extrapulmonares não meníngeas baseia-se na terapia por azólico via oral com fluconazol ou itraconazol (posaconazol e voriconazol também são opções). No caso de envolvimento vertebral ou resposta clínica inadequada, o tratamento com anfotericina B é recomendado juntamente com desbridamento cirúrgico apropriado e estabilização.

A coccidioidomicose meníngea é tratada com administração de fluconazol ou itraconazol (segunda escolha pela pouca penetração no SNC) indefinidamente. Posaconazol e voriconazol também são alternativas. A administração intratecal deanfotericina B é recomendada somente no caso de fracasso da terapia com azólico, devido à sua toxicidade quando administrada por essa via.

Emmonsiose

O gênero *Emmonsia* contém três espécies que têm sido associadas à doença humana. *Emmonsia crescens* e *E. parva* são os agentes da adiaspiromicose, uma doença pulmonar geralmente autolimitada descrita no Capítulo 66. Relatou-se que a espécie termodimórfica *E. pasteuriana* causou um único caso de infecção disseminada em um paciente italiano com infecção por HIV em fase terminal. Um segundo caso de doença pulmonar progressiva em um agricultor alemão foi devido a um fungo termodimórfico que foi identificado apenas como uma espécie *Emmonsia*. Mais recentemente, um fungo patogênico dimórfico mais estreitamente relacionado com *E. pasteuriana* foi relatado como causador de infecção disseminada em adultos infectados pelo HIV na África do Sul.

Morfologia

A espécie de *Emmonsia* isolada a partir de pacientes da África do Sul era um fungo termodimórfico que cresceu como um fungo filamentoso a 25°C e como uma levedura, a 37°C. A 25°C, as colônias cresceram a uma taxa lenta a moderada, assumindo uma aparência cerebriforme e tornando-se marrom claro, com segmentos em pó ao longo do tempo. Microscopia de luz revelou hifas septadas hialinas (1 a 1,5 µm de diâmetro) com numerosos conídios ovais de paredes lisas. Eles eram suportados em hastes curtas perpendiculares a uma vesícula intumescida. As vesículas dão origem a quatro a oito hastes ou pedículos, cada uma formando um conídio terminal, estabelecendo uma disposição em forma de flor, de quatro a oito conídios agrupados. Quando maduros, estes tinham distintas paredes celulares tuberculadas. Adiásporos não foram vistos em qualquer das culturas incubadas a 37°C ou 40°C.

Após a incubação a 37°C durante 10 a 14 dias, as culturas micelares foram convertidas para a fase de levedura. As colônias de leveduras eram lisas e de cor bege a marrom claro. As células de levedura eram pequenas (2 a 4 μm de diâmetro), de paredes finas, globosas a ovais, com brotamentos únicos ou múltiplos de bases estreita. As características macroscópicas e microscópicas eram indistinguíveis das de *E. pasteuriana*.

Epidemiologia

Além de casos de adiaspiromicose, a infecção disseminada devido à *Emmonsia* spp. ocorreu na Itália (1 caso), Alemanha (1 caso) e África do Sul (13 casos). Como tal, é pouco em termos de informação para documentar áreas específicas de endemicidade. Os casos da África do Sul foram todos diagnosticados após a implementação de PCR de amplo alcance para o diagnóstico e identificação fúngica em julho de 2008. Assim, a aparente aglomeração de casos e a "emergência" das *Emmonsia* spp. na África do Sul podem representar simplesmente a melhoria na detecção do organismo causador em vez do advento de um novo agente patogênico oportunista. Todos os casos da África do Sul ocorreram em adultos com infecção por HIV em fase avançada e tiveram amplo envolvimento cutâneo. Embora os casos africanos se assemelhassem muito a *E. pasteuriana*, a análise filogenética sugeriu que esses isolados representavam uma espécie previamente não identificada de *Emmonsia*. Além do aglomerado muito localizado dos casos e dos casos isolados, detalhes epidemiológicos adicionais não foram fornecidos. Sabe-se que as espécies de *Emmonsia* podem ser encontradas no ambiente, e que *E. crescens* e *E. parva* causam doença pulmonar em mamíferos pequenos. A via provável de infecção com a "nova" espécie de *Emmonsia* é por inalação de conídios de fungos a partir do ambiente, semelhante ao observado com a adiaspiromicose.

Síndromes Clínicas

Todos os casos notificados de infecção disseminada devido a *Emmonsia* spp. ocorreram em adultos imunocomprometidos, cuja grande maioria sofria de infecção por HIV de fase tardia. Todos os pacientes sul-africanos tinham contagens de células T CD4⁺ muito baixas (mediana, 16 células/mm³), estavam profundamente anêmicos e apresentavam lesões generalizadas na pele, que variavam de pápulas e placas eritematosas a placas com crostas e ulceradas pastosas. A maioria dos casos (85%) teve achados radiograficos de tórax que imitavam tuberculose. A infecção foi rapidamente fatal em três pacientes, um dos quais tinha células de levedura detectadas por exame microscópico no sangue periférico. Em oito dos nove pacientes que foram submetidos a estudos de função hepática, anomalias nos níveis de fosfatase alcalina e γ-glutamiltransferase sugeriram possível infiltração hepática. Dado que apenas os indivíduos com envolvimento cutâneo foram investigados por PCR e cultura, é possível que os pacientes infectados sem lesões cutâneas, que tinham envolvimento extracutâneo como a doença pulmonar ou hepática, não tenham sido identificados.

Diagnóstico Laboratorial

As células de levedura de *Emmonsia* spp. foram prontamente detectadas por exame histopatológico de biópsias de pele e foram isoladas em cultura a partir de sangue, medula óssea e tecido cutâneo. As culturas de líquido cefalorraquidiano e catarro foram negativas. A análise filogenética de cinco genes (DNAr de grande subunidade [LSU], regiões separadoras de DNAr transcritas internas [ITS 1-2] e genes que codificam a actina, β-tubulina, e interina PRP8) revelou que o fungo pertencia ao gênero *Emmonsia* e era mais intimamente relacionado com *E. pasteuriana*.

Tratamento

A maioria dos pacientes sul-africanos respondeu rapidamente ao tratamento com desoxicolato de anfotericina B seguido de terapia de manutenção itraconazol. Três pacientes morreram logo após o diagnóstico ter sido feito.

Histoplasmose

A histoplasmose (Caso Clínico 64-3) é causada por duas variedades de *Histoplasma capsulatum*: *H. capsulatum* var. *capsulatum* e *H. capsulatum* var. *duboissi* (Tabela 64-1). *H. capsulatum* var. *capsulatum* causa infecções pulmonares e disseminadas na metade oriental dos Estados Unidos e na maioria da América Latina, enquanto *H. capsulatum* var. *duboisii* causa, predominantemente, lesões cutâneas e ósseas e é restrito às áreas tropicais da África (Fig. 64-2).



Caso Clínico 64-3 Histoplasmose Disseminada

Mariani e Morris (*Infect Med* 24[Suppl 8]:17–19, 2007) descreveram um caso de histoplasmose disseminada em uma paciente com AIDS. A paciente, uma mulher salvadorenha de 42 anos, foi admitida no hospital para avaliação de uma dermatose progressiva, envolvendo a narina direita, bochecha e lábio, apesar da terapia antibiótica. Ela era HIV-positiva (contagem de linfócitos CD4 21/µl) e tinha vivido em Miami durante os últimos 18 anos. A lesão apareceu primariamente na narina direita, 3 meses antes da admissão. A paciente procurou atendimento médico e foi tratada sem sucesso com antibióticos orais. Nos 2 meses seguintes, a lesão aumentou de tamanho, envolvendo a região direita do nariz e bochecha, e acompanhada de febre, mal-estar e emagrecimento (cerca de 20 kg). Uma área necrótica se desenvolveu na parte superior da narina direita, estendendo-se até o lábio superior. O diagnóstico presumido de leishmaniose foi admitido, com base no país de origem da paciente e a possibilidade de uma picada de flebotomíneos.

O estudo laboratorial revelou anemia e linfopenia. A radiografia de tórax era normal, e a tomografia computadorizada da cabeça mostrou uma massa de tecidos moles na cavidade nasal. A análise histopatológica de uma biópsia de pele mostrou inflamação crônica com leveduras em brotamento intracitoplasmáticas. Na cultura da biópsia cresceu *Histoplasma capsulatum*, e o resultado do teste de antígeno de *Histoplasma* na urina foi positivo. A paciente foi tratada com anfotericina B seguida de itraconazol, com bons resultados.

Este caso ressalta a capacidade de *H. capsulatum* permanecer clinicamente latente por muitos anos, somente para reativar após a imunossupressão do hospedeiro. Manifestações cutâneas da histoplasmose são habitualmente consequência da progressão primária (latente) à doença disseminada. A histoplasmose não é endêmica no sul da Flórida, mas o é em muitos

países da América Latina, onde a paciente viveu antes de se mudar para Miami. Um elevado índice de suspeita e confirmação com biópsia de pele, cultura e teste de antígeno urinário são cruciais para o tratamento oportuno e adequado da histoplasmose disseminada.

Morfologia

Ambas as variedades de *H. capsulatum* são fungos dimórficos que existem como fungos filamentosos hialinos na natureza e em cultura a 25°C e como leveduras intracelulares com brotamento no tecido e em cultura a 37°C (Figs. 64-9, 64-10 e 64-11; Tabela 64-2). Em cultura, as formas de fungo filamentoso de *H. capsulatum* var. *capsulatum* e var. *duboisii* são macro e microscopicamente indistinguíveis. As colônias de fungo filamentoso crescem de maneira lenta e se desenvolvem colônias com hifas brancas ou marrons após vários dias a semanas. A forma de fungo filamentoso produz dois tipos de conídios: (1) macroconídios esféricos grandes (8 a 15 μm) de parede espessas, com projeções puntiformes (macroconídios tuberculados) que se originam de conidióforos curtos (Fig. 64-12, Fig. 64-1); e (2) microconídios pequenos e ovais (2 a 4 μm) com paredes lisas ou levemente rugosas sésseis ou em hastes curtas (Figs. 64-1 e 64-12). As células leveduriformes são de parede finas, ovais, de 2 a 4 μm (var. *capsulatum*) (Fig. 64-10) ou são de paredes mais finas de 8 a 15 μm (var. *duboisii*) (Fig. 64-11). As células leveduriformes de ambas as variedades de *H. capsulatum* são intracelulares uninucleadas *in vivo* (Figs. 64-10 e 64-11).

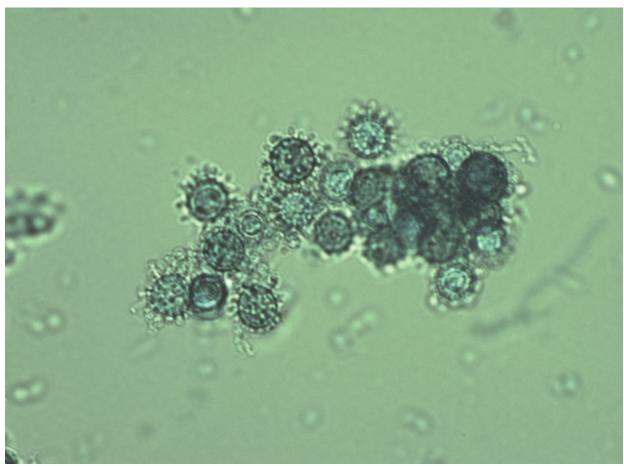


FIGURA 64-9 Fase filamentosa de *Histoplasma capsulatum* mostrando macroconídios tuberculados.

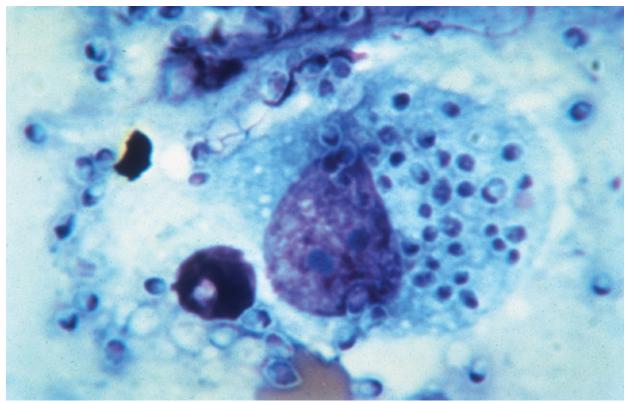


FIGURA 64-10 Preparado corado por Giemsa mostrando estruturas leveduriformes intracelulares de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*.

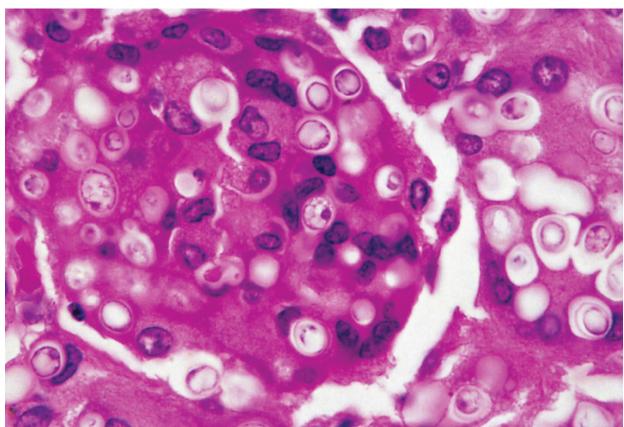


FIGURA 64-11 Secção de tecido corado pela coloração de H&E mostrando estruturas leveduriformes intracelulares de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*. (De Connor DH, Schwartz DA: *Pathology of infectious diseases*, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

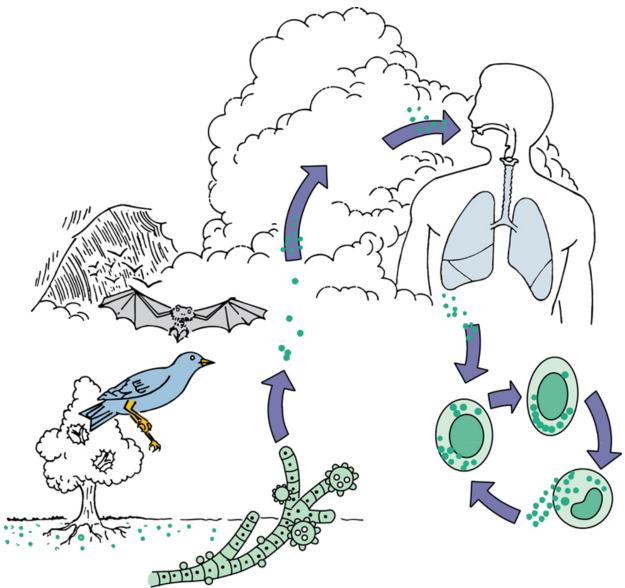


FIGURA 64-12 História natural do ciclo do fungo filamentoso (saprófita) e da levedura (parasita) de *Histoplasma capsulatum*.

Epidemiologia

A histoplasmose produzida pelo *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* se localiza em regiões amplas dos vales dos rios Ohio e Mississipi, nos Estados Unidos, e ocorre por todo o México e Américas Central e do Sul (Fig. 64-2 e Tabela 64-1). A histoplasmose *duboisii*, ou histoplasmose africana, está confinada às áreas tropicais da África, incluindo Gabão, Uganda e Quênia (Fig. 64-2 e Tabela 64-1).

O habitat da forma filamentosa de ambas as variedades de *H. capsulatum* é o solo com alto conteúdo de nitrogênio, como aquele encontrado em áreas contaminadas com fezes de pássaros ou morcegos. Os surtos de histoplasmose têm sido associados a exposições a poleiro de aves, cavernas e construções deterioradas ou projetos de renovação urbana envolvendo escavação e demolição. A aerossolização dos microconídios e fragmentos de hifas no solo revolvido, com a subsequente inalação por pessoas expostas, é considerada a base para estes surtos (Fig. 64-12). Ainda que a proporção da infecção possa alcançar 100% em algumas exposições, muitos casos permanecem assintomáticos e são detectados apenas pelo teste cutâneo. As pessoas imunocomprometidas e crianças são mais propensas a desenvolver doença sintomática com qualquer uma das duas variedades de *Histoplasma*. A reativação da doença e a disseminação são comuns entre pessoas imunossuprimidas, especialmente aquelas com AIDS.

Síndromes Clínicas

A via normal de infecção a ambas as variedades da histoplasmose é por inalação dos microconídios, que um após outro germinam em leveduras dentro do pulmão e podem permanecer localizados ou disseminados hematogenicamente ou pelo sistema linfático (Fig. 64-12). Os microconídios são fagocitados rapidamente pelos macrófagos e neutrófilos pulmonares, e parece que a conversão é a forma parasitária de levedura intracelular.

Histoplasmose por H. capsulatum

A apresentação clínica da histoplasmose causada por *H. capsulatum* var. *capsulatum* depende da intensidade da exposição e do estado imunológico do hospedeiro. A infecção assintomática ocorre em 90% dos casos após uma exposição de pequena intensidade. No caso de uma exposição a um grande inóculo, entretanto, muitos indivíduos exibem alguns sintomas. A forma autolimitada de histoplasmose pulmonar aguda é marcada por sintomas de resfriado com febre, calafrios, cefaleia, tosse, mialgias e dor torácica. A evidência radiográfica de adenopatia hilar ou mediastinal e de infiltrados pulmonares irregulares pode ser observada. Muitas infecções agudas se resolvem com cuidados assistenciais e não necessitam de tratamento antifúngico específico. Em raros casos, geralmente após exposição bastante intensa, a síndrome do desconforto respiratório agudo pode ser vista. Em cerca de 10% dos pacientes, pode ser vista sequela inflamatória, como linfadenopatia persistente com obstrução brônquica, artrite, artralgias ou pericardite. Outra complicação rara da histoplasmose é uma condição conhecida como **fibrose mediastinal**, em que a resposta persistente do hospedeiro ao organismo pode resultar em fibrose invasiva e constrição das estruturas mediastinais, incluindo o coração e os grandes vasos.

Histoplasmose pulmonar progressiva pode se seguir à infecção aguda em aproximadamente um em 100 mil casos por ano. Os sintomas pulmonares crônicos estão associados a cavidades apicais e fibrose e são mais prováveis que ocorram em pacientes com doença pulmonar prévia de base. Essas lesões, em geral, não cicatrizam espontaneamente, e a persistência do organismo leva a uma destruição progressiva e fibrose secundária à resposta imune do organismo.

À histoplasmose disseminada segue a infecção aguda em um em 2.000 adultos e é muito maior em crianças e adultos imunocomprometidos. A doença disseminada pode assumir um curso crônico, subagudo ou agudo. A histoplasmose disseminada crônica é caracterizada por perda de peso e fadiga, com ou sem febre. Úlceras orais e hepatoesplenomegalia são comuns.

A histoplasmose disseminada subaguda é marcada por febre, perda de peso e mal-estar. As úlceras orofaríngeas e hepatoesplenomegalia são proeminentes. O envolvimento da medula óssea pode produzir anemia, leucopenia e trombocitopenia. Outros locais de envolvimento incluem as adrenais, válvulas cardíacas e o sistema nervoso central. A histoplasmose disseminada subaguda não tratada evolui para óbito em 2 a 24 meses.

A histoplasmose disseminada aguda é um processo fulminante, mais comumente visto em indivíduos gravemente imunossuprimidos, incluindo aqueles com AIDS, transplantados e os que recebem esteroides ou outra quimioterapia imunossupressora. Além disso, crianças com menos de 1 ano e adultos com condições médicas debilitantes também correm risco, em função de uma exposição suficiente ao fungo. Ao contrário de outras formas de histoplasmose, a doença disseminada aguda pode se apresentar com um quadro semelhante ao choque séptico, com febre, hipotensão, infiltrados pulmonares e desconforto respiratório agudo. As ulcerações gastrointestinais e orais, sangramento, insuficiência adrenal, meningite e endocardite também podem estar presentes. Se não tratada, a histoplasmose disseminada aguda é fatal em um curto período (dias a semanas).

Histoplasmose Duboisii

Ao contrário da histoplasmose clássica, as lesões pulmonares são incomuns na histoplasmose africana. A forma localizada da histoplasmose *duboisii* é uma doença crônica caracterizada por linfadenopatia regional com lesões cutâneas e ósseas. As lesões cutâneas são papulares ou nodulares e progridem, eventualmente, para abscessos que ulceram. Por volta de um terço dos pacientes exibirá lesões ósseas características por osteólise e envolvimento de articulações contíguas. O crânio, o esterno, as costelas e os ossos longos são mais frequentemente envolvidos, muitas vezes com abscessos de base e drenagem de seios.

Uma forma disseminada mais fulminante da histoplasmose *duboisii* pode ser vista em indivíduos profundamente imunodeficientes. A disseminação hematogênica e linfática à medula óssea, ao fígado, baço e a outros órgãos ocorre e é marcada por febre, linfadenopatia, anemia, perda de peso e organomegalia. Essa forma de doença é uniformemente fatal, a menos que prontamente diagnosticada e tratada.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da histoplasmose pode ser feito pelo exame micológico direto, cultura do sangue, medula óssea ou outro material clínico, e por sorologia, incluindo a detecção do antígeno no sangue e na urina (Tabela 64-4; Tabela 64-2). A fase leveduriforme do organismo pode ser detectada no escarro, lavado broncoalveolar, sangue periférico, medula óssea e tecido corado com corante Giemsa, GMS ou PAS (Fig. 64-10). Nos cortes teciduais, as células de *H. capsulatum* var. *capsulatum* são leveduriformes, hialinas, esféricas a ovais, de 2 a 4 µm de diâmetro, uninucleadas e com brotamentos únicos ligados por base estreita. As células são, em geral, intracelulares e agrupadas. As células de *H. capsulatum* var. *duboisii* também são intracelulares, leveduriformes e uninucleadas, porém são muito maiores (8 a 15 µm) e têm paredes espessas de "duplo contorno". Elas estão, geralmente, em macrófagos e células gigantes (Fig. 64-11).

Culturas de amostras respiratórias, sangue, medula óssea e tecidos são importantes nos pacientes com doença disseminada, devido à alta sobrecarga do organismo. Elas são menos úteis na doença autolimitada ou localizada (Tabela 64-4). O crescimento da forma micelial em cultura é lento, e uma vez isolado, a identificação deve ser confirmada pela conversão à fase leveduriforme ou pela utilização do teste do exoantígeno ou hibridização do ácido nucleico. Como outros patógenos dimórficos, as culturas de *H. capsulatum* devem ser manuseadas com cuidado em cabine de biossegurança.

O diagnóstico sorológico da histoplasmose envolve testes para a detecção tanto do antígeno como do anticorpo (Tabela 64-2). Os ensaios de detecção do anticorpo incluem reação de fixação do complemento e teste de imunodifusão. Tais testes são, em geral, utilizados juntos para aumentar a sensibilidade e especificidade, porém não são úteis na fase aguda, e ambos, muitas vezes, têm resultados negativos nos pacientes imunocomprometidos com infecção disseminada.

A detecção do antígeno de *Histoplasma* no soro e na urina por ensaio imunoenzimático tem sido muito útil, particularmente no diagnóstico da doença disseminada (Tabelas 64-2 e 64-4). A sensibilidade da detecção do antígeno é maior em amostras de urina que nas de sangue e varia de 21% na doença pulmonar crônica a 92% na doença disseminada. A detecção seriada do antígeno

pode ser utilizada para avaliar a resposta à terapia e no estabelecimento da regressão da doença. Ambos, o BDG e PCR, têm sido úteis no diagnóstico da histoplasmose. Enquanto o BDG tem apenas sensibilidade e especificidade modestas (87% e 65%, respectivamente), a PCR mostrou excelente sensibilidade (100%) e especificidade (95%) e foi aplicada a uma vasta gama de amostras clínicas.



Tabela 64-4

Testes Laboratoriais para Histoplasmose

Teste	Sensibilidade (% Verdadeiro-positivos) em Condições Patológicas			
	Disseminada	Pulmonar Crônica	Autolimitada*	
Antígeno	92	21	39	
Cultura	85	85	15	
Histopatologia	43	17	9	
Sorologia	71	100	98	

De Cohen J, Powderly WG, Opal SM: Infectious diseases, ed 3, Philadelphia, 2010, Mosby.

Tratamento

Visto que muitos pacientes com histoplasmose se recuperam sem terapia, a primeira decisão deve ser se a terapia antifúngica é necessária. Alguns pacientes imunocompetentes com infecção mais grave podem exibir sintomas prolongados e podem se beneficiar do tratamento com itraconazol. Em casos de histoplasmose pulmonar aguda grave, com hipoxemia e síndrome do desconforto respiratório agudo, a formulação lipídica da anfotericina B deve ser administrada seguida de itraconazol via oral para completar um curso de 12 semanas.

A histoplasmose pulmonar crônica também justifica o tratamento, pois é sabido que ela progride se não for tratada. O tratamento é recomendado com anfotericina B lipídica seguida de itraconazol por 12 a 24 meses.

A histoplasmose disseminada, em geral, responde bem à terapia com anfotericina B lipídica. Uma vez estabelecida, a terapia do paciente pode ser trocada para itraconazol via oral a ser administrada por 6 a 18 meses. Os pacientes com AIDS podem necessitar de uma terapia por tempo mais prolongado com itraconazol. Como alternativas de agentes azólicos, estão o posaconazol, voriconazol ou fluconazol; porém, a resistência secundária ao fluconazol tem sido descrita em pacientes com tratamento prolongado.

A histoplasmose do sistema nervoso central é universalmente fatal se não tratada. A terapia de escolha é a anfotericina B lipídica seguida de fluconazol por 9 a 12 meses.

Os pacientes com histoplasmose mediastinal obstrutiva requerem terapia com anfotericina B lipídica. O itraconazol pode ser utilizado na terapia de pacientes ambulatoriais.

Paracoccidioidomicose

A paracoccidioidomicose é uma infecção fúngica sistêmica causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*. Essa infecção é também conhecida como **blastomicose sul-americana** e é a principal infecção fúngica endêmica dimórfica nos países da América Latina. A paracoccidioidomicose primária ocorre, geralmente, em pessoas jovens, como um processo pulmonar autolimitado. Nesse estágio, raras vezes exibe um curso progressivo agudo ou subagudo. A reativação de uma lesão quiescente primária pode ocorrer anos depois, resultando em doença pulmonar progressiva com ou sem envolvimento de outros órgãos.

Morfologia

A fase de fungo filamentoso de *P. brasiliensis* cresce lentamente *in vitro* a 25°C. As colônias brancas se tornam aparentes em 3 a 4 semanas, tomando eventualmente aparência aveludada. Colônias glabrosas, enrugadas e acastanhadas também podem ser vistas. A forma micelial não é descritiva e/ou diagnóstica: hifas hialinas, septadas com clamidoconídios intercalados. A identificação específica requer a conversão à forma de levedura ou o teste do exoantígeno.

A forma de levedura característica é vista em tecido e em cultura a 37°C. As células leveduriformes ovais a arredondadas, de tamanho variável (3 a 30 μm ou mais de diâmetro), com paredes refráteis duplas e brotamentos únicos ou múltiplos (blastoconídios), são características desse fungo (Fig. 64-13). Os blastoconídios são ligados à célula-mãe por um istmo estreito, e seis ou mais de vários tamanhos podem ser produzidos a partir de uma única célula, denominada de morfologia em "roda de leme". A variabilidade de tamanho e número de blastoconídios e suas conexões a células-mãe são aspectos de identificação (Fig. 64-13). Esses aspectos são mais bem revelados pelos corantes de GMS, mas também podem ser vistos em tecidos corados pela coloração H&E ou em montagens do material clínico com KOH.

^{*} Inclui histoplasmose pulmonar aguda, síndrome reumatológica e pericardite.

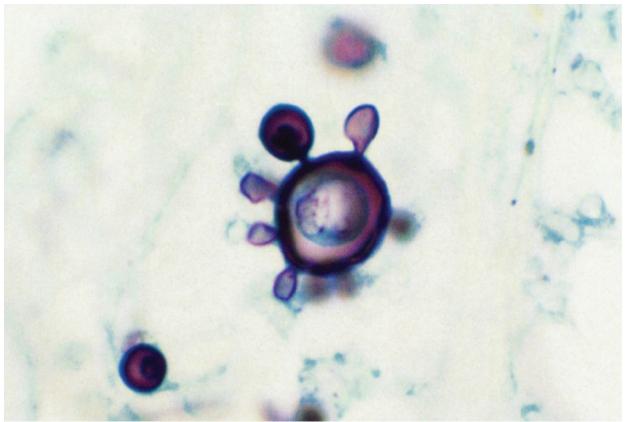


FIGURA 64-13 Células leveduriformes de *Paracoccidioides brasiliensis* coradas pelos corantes de GMS, mostrando a morfologia de múltiplos brotamento em "roda de Ieme". (De Connor DH, Schwartz DA: *Pathology of infectious diseases*, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Epidemiologia

A paracoccidioidomicose é endêmica por toda a América Latina, porém é mais prevalente na América do Sul que na América Central (Fig. 64-2). A maior incidência é observada no Brasil, seguida de Colômbia, Venezuela, Equador e Argentina. Todos os pacientes diagnosticados fora da América Latina viveram, previamente, nessa região. A ecologia das áreas endêmicas inclui umidade alta, vegetação rica, temperaturas moderadas e solo ácido. Essas condições são encontradas junto aos rios da selva amazônica às pequenas florestas indígenas do Uruguai. *P. brasiliensis* tem sido recuperado do solo em tais áreas; no entanto, seu nicho ecológico não é bem estabelecido. A porta de entrada é pela via inalatória ou inoculação por trauma (Fig. 64-14). A infecção natural tem sido documentada em tatus.

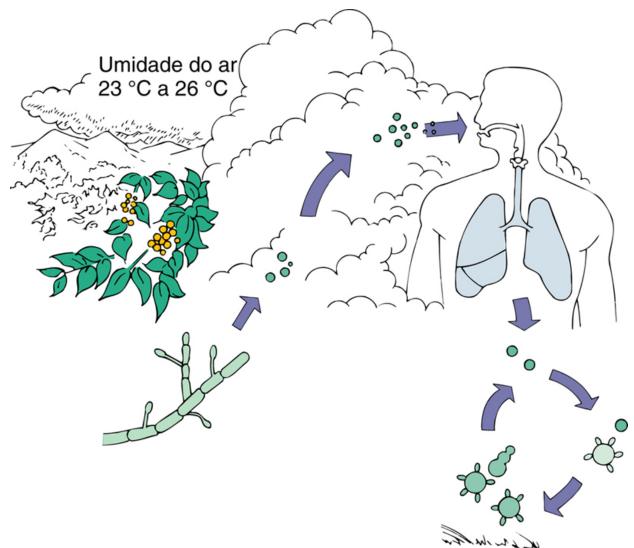


FIGURA 64-14 História natural do ciclo do fungo filamentoso (saprófita) e da levedura (parasita) de *Paracoccidioides brasiliensis*.

Embora a infecção ocorra em crianças (maior incidência de 10 a 19 anos), a doença evidente é incomum em crianças e adolescentes. Nos adultos, é mais comum em homens com idade de 30 a 50 anos. A inibição mediada por estrogênio da transição de fungo filamentoso para levedura pode explicar a razão de macho/fêmea de 15:1 da doença clínica. Muitos pacientes com doença clinicamente aparente vivem em áreas rurais e têm contato próximo com o solo. Não existem relatos de epidemias ou transmissão de uma pessoa a outra. A depressão da imunidade mediada por células se correlaciona com a forma progressiva aguda da doença.

Síndromes Clínicas

A paracoccidioidomicose pode ser subclínica ou progressiva, com formas pulmonares aguda ou crônica, ou formas disseminadas aguda, subaguda ou crônica da doença. Muitas infecções primárias são autolimitadas; entretanto, o organismo pode se tornar inativo por longos períodos e reativar para causar doença clínica concomitante com as defesas deficientes do hospedeiro. Uma forma disseminada subaguda é vista em pacientes mais jovens e indivíduos imunocomprometidos com linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, envolvimento da medula óssea e manifestações osteoarticulares semelhantes à osteomielite. A fungemia recorrente resulta em disseminação, e lesões cutâneas são frequentes. As lesões pulmonares e de mucosa não são vistas nessa forma de doença.

Os adultos se apresentam, muitas vezes, com uma forma pulmonar crônica da doença marcada por problemas respiratórios, frequentemente como única manifestação. A doença progride lentamente por meses a anos com tosse persistente, escarro purulento, dor torácica, perda de peso, dispneia e febre. As lesões pulmonares são nodulares, infiltrativas, fibróticas e cavitárias.

Apesar de 25% dos pacientes exibirem apenas manifestações pulmonares da doença, a infecção pode se disseminar em pontos extrapulmonares na ausência de diagnóstico e tratamento. As localizações extrapulmonares proeminentes incluem pele e mucosa, linfonodos, glândulas adrenais, fígado, baço, sistema nervoso central e ossos. As lesões de mucosa são dolorosas e ulceradas e, em geral, estão confinadas a boca, lábios, gengivas e palato. Mais de 90% dos afetados são do sexo masculino.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é estabelecido pela demonstração das células leveduriformes características no exame microscópico do escarro, lavado broncoalveolar, raspados ou biópsias de úlceras, pus drenado de linfonodos, líquido cefalorraquidiano ou tecido (Tabela 64-2). O organismo pode ser visualizado por uma variedade de métodos de coloração, incluindo calcoflúor, H&E, GMS,

PAS ou coloração de Papanicolaou (Fig. 64-13). A presença de brotamentos múltiplos distingue *P. brasiliensis* de *Cryptococcus* neoformans e de *Blastomyces dermatitidis*.

O isolamento do organismo em cultura requer confirmação pela demonstração do dimorfismo térmico ou teste do exoantígeno (detecção do exoantígeno 1, 2 e 3). As culturas devem ser manipuladas em cabine de biossegurança.

O teste sorológico utilizando imunodifusão ou fixação do complemento para demonstrar o anticorpo pode ser útil para sugerir o diagnóstico e na avaliação da resposta à terapia (Tabela 64-2). A aplicação de ambos os testes, de detecção de antígeno e de diagnóstico baseado em PCR, tem sido limitada até à data.

Tratamento

O itraconazol é o tratamento de escolha para a maioria das formas da doença e geralmente deve ser dado por, pelo menos, 6 meses. As infecções mais graves ou refratárias podem requerer terapia com anfotericina B lipídica acompanhada por terapia com itraconazol ou sulfonamida. Recaídas são comuns com a terapia por sulfonamida, e a dose e duração requerem ajustes baseados em parâmetros clínicos e micológicos. O fluconazol tem alguma atividade contra este organismo, embora recaídas frequentes tenham limitado sua utilização no tratamento dessa doença.

Talaromicose (Peniciliose) marneffei

A talaromicose *marneffei* é uma micose disseminada causada pelo fungo dimórfico *Talaromyces* (anteriormente *Penicillium*) *marneffei*. Essa infecção envolve o sistema fagocitário mononuclear e ocorre, principalmente, em pessoas infectadas pelo HIV na Tailândia e China meridional (Fig. 64-2).

Morfologia

P. marneffei é a única espécie de *Talaromyces* que é um fungo dimórfico patogênico. Em sua fase de fungo filamentoso em cultura a 25°C, exibe estruturas esporuladas que são típicas do gênero (Fig. 64-1). A identificação é auxiliada pela formação de um pigmento vermelho solúvel que se difunde no ágar (Tabela 64-3).

Em cultura a 37°C e no tecido, *P. marneffei* cresce como um organismo leveduriforme que se divide por fissão e exibe um septo transversal (Fig. 64-15). A levedura é intracelular *in vivo* e, nesse sentido, lembra *H. capsulatum*, apesar de ser um tanto mais pleomórfico e alongado, e não apresenta brotamento (Tabela 64-2 e Figs. 64-10 e 64-15).

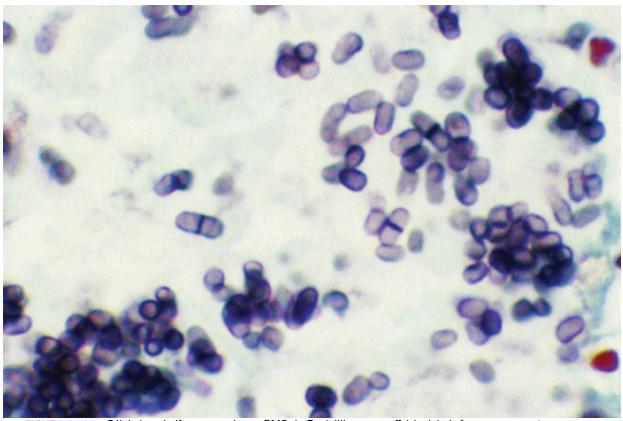


FIGURA 64-15 Célula leveduriforme corada por GMS de *Penicillium marneffei*, incluindo formas com septos transversais únicos e amplos (centro). (De Connor DH, Schwartz DA: *Pathology of infectious diseases*, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

T. marneffei emergiu como um patógeno fúngico proeminente entre indivíduos infectados pelo HIV no Sudeste Asiático (Fig. 64-2). Os casos importados foram reportados na Europa e nos Estados Unidos. Ainda que a infecção tenha sido em hospedeiros imunocompetentes, a grande maioria das infecções desde 1987 ocorreu em pacientes com AIDS ou em outros hospedeiros imunossuprimidos que residem ou visitaram o Sudeste Asiático ou a China Meridional. A talaromicose (peniciliose) *marneffei* se tornou um indicador precoce da infecção pelo HIV naquela parte do mundo. *T. marneffei* tem sido isolado de ratos dos bambus e, ocasionalmente, do solo. A infecção adquirida em laboratório tem sido reportada em pessoas imunocomprometidas expostas à forma filamentosa em cultura.

Síndromes Clínicas

A talaromicose *marneffei* é manifestada quando um hospedeiro suscetível inala os conídios de *T. marneffei* do ambiente e a doença disseminada se desenvolve. A infecção pode imitar a tuberculose, leishmaniose, outras infecções oportunistas relacionadas com a AIDS, como a histoplasmose e criptococose. Os pacientes apresentam febre, tosse, infiltrados pulmonares, linfadenopatia, organomegalia, anemia, leucopenia e trombocitopenia. As lesões cutâneas refletem a disseminação hematogênica e aparecem como lesões semelhantes ao molusco contagioso na face e no tronco.

Diagnóstico Laboratorial

T. marneffei é facilmente recuperado das amostras clínicas, incluindo amostras de sangue, medula óssea, lavado broncoalveolar e tecidos. O isolamento de um fungo filamentoso em cultura de 25°C a 30°C que exibe a morfologia típica semelhante à Penicillium e um pigmento vermelho difusível é altamente sugestivo. A conversão à fase leveduriforme a 37°C é confirmatória. A detecção microscópica de leveduras com fissão elíptica dentro dos fagócitos em esfregaços de medula óssea, lesões cutâneas ulcerativas, linfonodos ou preparos em camadas de células brancas é diagnóstica (Fig. 64-15). Os testes sorológicos que detectam o antígeno e o anticorpo têm sido desenvolvidos, embora não haja testes comerciais padronizados disponíveis. Métodos de PCR e sequenciamento de DNA foram aplicados para ambos: detecção direta de amostras clínicas e identificação de T. marneffei da cultura.

Tratamento

A formulação lipídica de anfotericina B, voriconazol e itraconazol é frequentemente utilizada para tratar a infecção por *T. marneffei*. A administração da anfotericina B por 2 semanas deve ser seguida de itraconazol por outras 10 semanas. Os pacientes com AIDS podem necessitar de tratamento por toda a vida com itraconazol ou voriconazol para prevenir as recorrências da infecção. A terapia com fluconazol tem sido associada a um alto índice de falha e não é recomendada. As equinocandinas, bem como o posaconazol e terbinafina, podem ser úteis, mas mais dados são necessários.

Referências Bibliográficas

Anstead GM, Sutton DA, Graybill JR. Adiaspiromycosis causing respiratory failure and a review of human infections due to *Emmonsia* and *Chrysosporium* spp. *J Clin Microbiol*. 2012;50:1346–1354.

Brandt ME, et al. Histoplasma, Blastomyces, Coccidioides, and other dimorphic fungi causing systemic mycoses. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Brown J, Benedict K, Park BJ, et al. Coccidioidomycosis: epidemiology. Clin Epidemiol. 2013;5:185–197.

Connor DH, Schwartz DA. Pathology of infectious diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange; 1997.

Kauffman CA. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. Clin Microbiol Rev. 1997;20:115.

Kenyon C, Bonorchis K, Corcoran C, et al. A dimorphic fungus causing disseminated infection in South Africa. N Engl J Med. 2013;369:1416–1424.

Restrepo A, Gomez BL, Tobon A. Paracoccidioidomycosis: Latin America's own fungal disorder. Curr Fungal Infect Rep. 2012;6:303–311.

Roy M, Benedict K, Deak E, et al. A large community outbreak of blastomycosis in Wisconsin with geographic and ethnic clustering. *Clin Infect Dis*. 2013;57:655–662.

Smith JA, Kauffman CA. Blastomycosis. Proc Am Thorac Soc. 2010;7:173–180.

Vanittanakom N, Cooper Jr CR, Fisher MC, et al. *Penicillium marneffei* infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19:95.

Micoses Oportunistas

George é um paciente de 45 anos que se submeteu a transplante alogênico de células-tronco como parte de seu tratamento de leucemia aguda. O transplante foi bem-sucedido e, após o enxerto, ele recebeu alta do hospital. Durante o curso de seu transplante, os médicos fizeram profilaxia antifúngica com voriconazol devido às preocupações com aspergilose, que tem sido um problema no hospital nos últimos anos. Após receber alta, George reagiu bem, e sua profilaxia antifúngica continuou; contudo, durante uma consulta, 140 dias após o transplante, foram observados exantema e elevados resultados no estudo das funções hepáticas. Cerca de 1 semana depois, o paciente apresentou diarreia sanguinolenta e seu médico ficou preocupado com a doença do enxerto *versus*hospedeiro (GVHD, do inglês, *graft-versus-host disease*). Realizou-se biópsia retal, confirmando GVHD, e o regime de imunossupressão de George foi aumentado, assim como sua dose diária de voriconazol. Os sinais e sintomas de GVHD continuaram e, eventualmente, ele foi novamente hospitalizado com febre, confusão e falta de ar. A radiografia do tórax mostrou infiltrado cuneiforme no campo pulmonar inferior direito, e as investigações dos seios mostraram opacificação bilateral.

- 1. Qual seria o diagnóstico diferencial para este processo?
- 2. Quais patógenos fúngicos deveriam ser considerados em um indivíduo imunossuprimido recebendo profilaxia antifúngica com voriconazol?
- 3. Qual deve ser o procedimento para fazer o diagnóstico?
- 4. Qual curso de terapia deveria ser assumido?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Candidíase

Palavras-gatilho

Candida, pseudo-hifas, endógeno, exógeno, levedura e pseudo-hifas, imunocomprometidos, candidíase vaginal, orofaríngea

Biologia, Virulência e Doença

- Leveduras oportunistas que causam infecções, desde doenças da mucosa superficial e cutânea até infecções hematologicamente disseminadas, muitas vezes fatais
- A grande maioria das infecções deve-se a cinco espécies principais: C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis, C. tropicalis e C. krusei.
- A morfologia varia de brotamento de leveduras a pseudo-hifas e hifas verdadeiras
- A reprodução dá-se pela formação de blastoconídios (brotos)
- Grupo mais importante de fungos patógenos oportunistas
- Pode ser adquirida na comunidade (infecções das mucosas) ou associada a hospitais (doença invasiva)

Epidemiologia

- Candida spp. são conhecidos colonizadores dos seres humanos e outros animais de sangue quente
- O local primário da colonização é o trato gastrointestinal; comensais na vagina, uretra, pele e unhas
- A maioria das infecções são endógenas, envolvendo normalmente comensais da flora hospedeiras
- Transmissão exógena em hospitais também ocorre
- C. albicans predomina na maioria dos tipos de infecção
- As consequências de infecções da corrente sanguínea por *Candida* (BSIs) são graves; fatores de risco incluem malignidades hematológicas e neutropenia, cirurgia abdominal, prematuridade em recém-nascidos e idade > 70 anos

Diagnóstico

- Aparência clínica, exame microscópico direto e cultura
- Infecções hematologicamente disseminadas e candidemia difícil de diagnosticar unicamente em achados clínicos
- O diagnóstico laboratorial envolve a procura de material clínico apropriado, seguido de exame microscópico direto, cultura e aplicação (cada vez mais) análise molecular, antigênica e proteômica

Tratamento, Prevenção e Controle

- Infecção mucosa e cutânea: antifúngicos tópicos e sistemicamente ativos incluem azóis (itraconazol, fluconazol, muitos outros), polienos (anfotericina B e nistatina)
- Candidíase invasiva e candidemia: administração oral ou intravenosa, dependendo do agente antifúngico e gravidade da doença e/ou imunossupressão; azóis (fluconazol, voriconazol, posaconazol, isavuconazol), equinocandinas (anidulafungina, caspofungina, micafungina), formulações de anfotericina B (desoxicolato e formulações lipídicas), flucitosina

Criptococose

Palavras-gatilho

Cápsula, levedura em brotamento, SNC, neurotrópico, tinta da Índia, antígeno, AIDS

Biologia, Virulência e Doença

- Micose sistêmica causada pelo fungo Cryptococcus neoformans e C. gattii
- C. neoformans inclui sorotipos capsulares A, D, e AD; var. grubii (sorotipo A) e var. neoformans (sorotipo D)
- C. gattii inclui sorotipos B e C
- · Organismos esféricos a ovais, encapsulados, similares a leveduras que se replicam por brotamento
- Ambas as espécies podem causar doença pulmonar e do sistema nervoso central (SNC), e disseminação hematogênica

Epidemiologia

- Geralmente adquirida pela inalação de células aerossolizadas de C. neoformans e C. gattii
- Ambas as espécies patógenas para indivíduos imunocompetentes
- *C. neoformans*: mais frequentemente encontrado como patógeno oportunista; encontrado em todo o mundo, em solo contaminado com excrementos de aves
- *C. gattii*: encontrado em climas tropicais e subtropicais em associação a árvores de eucalipto; o foco no noroeste do Pacífico tem sido associado a abetos de Douglas
- A doença é semelhante, embora a infecção por *C. gattii* tenda a ocorrer em indivíduos imunocompetentes e tenha uma mortalidade associada inferior
- A incidência diminuiu progressivamente, desde o início de 1990, devido ao uso generalizado de fluconazol e o sucesso do tratamento da infecção pelo HIV com fármacos antivirais

Diagnóstico

- Pode apresentar-se como um processo pneumônico, ou (mais comumente) como infecção do SNC
- O diagnóstico pode ser feito por hemocultura, líquido cefalorraquidiano (LCR) ou outro material clínico
- O exame microscópico do LCR pode revelar células de levedura em brotamento encapsuladas características
- Meningite criptocócica: diagnóstico através da detecção do antígeno polissacarídeo no soro ou LCR

Tratamento, Prevenção e Controle

- A meningite criptocócica e outras formas disseminadas são universalmente fatais se não tratadas
- Terapia antifúngica: anfotericina B (desoxicolato ou formulação lipídica) mais flucitosina seguida de terapia de manutenção/consolidação com fluconazol (preferencial) ou itraconazol
- Controle eficaz da pressão do SNC e síndrome inflamatória de reconstituição imune (SIRI) cruciais para o tratamento bemsucedido de meningite criptocócica

Aspergilose

Palavras-gatilho

Hifas septadas ramificadas, pneumonite de hipersensibilidade, angioinvasiva, aspergiloma, conídios

Biologia, Virulência e Doença

- Amplo espectro de doenças causadas por fungos filamentosos (bolores) do gênero Aspergillus
- A exposição a esporos no ambiente pode causar reações alérgicas em hospedeiros hipersensibilizados ou doença destrutiva, invasiva, pulmonar e disseminada em hospedeiros altamente imunocomprometidos
- A grande maioria das infecções são causadas por A. fumigatus (mais comum), A. flavus, A. niger e A. terreus
- Bolores hialinos que produzem grandes quantidades de esporos (conídios) que servem como propágulos infecciosos após inalação pelo hospedeiro
- A aspergilose invasiva marcada por angioinvasão e destruição tecidular devido a infarto
- Disseminação hematogênica de infecção para locais extrapulmonares (mais comumente cérebro, coração, rins, trato GI, fígado, baço) comum devido à natureza angioinvasiva do fungo

Epidemiologia

- · Aspergillus spp. comuns em todo o mundo; conídios onipresentes no ar, solo, matéria em decomposição
- No ambiente hospitalar, *Aspergillus* spp. podem ser encontrados no ar, chuveiros, tanques de armazenamento de água, vasos de plantas
- Conídios (esporos) constantemente inalados; trato respiratório mais frequente e importante porta de entrada
- Reação do hospedeiro, achados patológicos e resultados da infecção dependem mais de fatores do hospedeiro que da virulência ou patogenia das espécies individuais

Diagnóstico

• Sorológicos, cultura, histopatológico, métodos moleculares, bioquímicos e antigênicos complementados por exames de imagem

Tratamento, Prevenção e Controle

- O tratamento quase sempre envolve a administração de corticosteroides junto com higiene pulmonar
- Tratamento da aspergilose pulmonar crônica pode envolver esteroides, bem como terapêutica antifúngica de longo prazo, em geral com um agente antifúngico azol
- A profilaxia de pacientes de alto risco (neutropênicos) geralmente é realizada pela administração de um azol ativo contra fungos filamentosos (itraconazol, posaconazol, voriconazol)

- O tratamento antifúngico específico da aspergilose invasiva na maioria das vezes envolve a administração de voriconazol ou uma formulação lipídica da anfotericina B; isavuconazol foi liberado recentemente pela Food and Drug Administration americana para o tratamento de aspergilose invasiva
- Esforços para diminuir a imunossupressão e/ou reconstituir as defesas imunitárias do hospedeiro são importantes, assim como a ressecção cirúrgica do tecido infectado, se possível
- A ressecção de aspergilomas só é considerada em casos de hemoptise grave

A frequência de micoses invasivas causadas por patógenos fúngicos oportunistas aumentou consideravelmente nas últimas duas décadas. Esse aumento das infecções é associado a excessivas morbidade e mortalidade (Cap. 57, Tabela 57-1), e está diretamente relacionado com o aumento da população sujeita a risco de desenvolver infecções fúngicas graves. Os grupos de alto risco incluem indivíduos submetidos à transfusão de sangue, transplante de medula e sangue (BMT, do inglês, blood and marrow transplantation), transplante de órgãos sólidos e cirurgias de grande porte (especialmente cirurgia do trato gastrointestinal [GI]); também portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e de doença neoplásica, pacientes sob terapia imunossupressiva, idosos e crianças nascidas prematuramente (Tabela 65-1). Os agentes mais conhecidos de micoses oportunistas são Candida albicans, Cryptococcus neoformans e Aspergillus fumigatus (Quadro 65-1). Estima-se que a frequência de micoses invasivas causadas por esses patógenos seja mais de 400.000 infecções por ano para Candida, mais de 1.000.000 para C. neoformans e mais de 400.000 para Aspergillus (Cap. 57, Tabela 57-1). Além desses agentes, é de importância cada vez maior a lista de "outros" fungos oportunistas que cresce a cada dia (Quadro 65-1). Esses novos e emergentes patógenos fúngicos incluem espécies de Candida e Aspergillus diferentes de C. fumigatus, Α. microsporídios, (p.ex., albicans e outros fungos leveduriformes oportunistas espécies de Trichosporon, Malassezia, Rhodotorula, Blastoschizomyces capitatus), zigomicetos (ordem Mucorales), fungos filamentosos hialinos (p.ex., Fusarium, Sarocladium, Scedosporium, Scopulariopsis, Purpureocillium [Paecilomyces] e espécies de Trichoderma), além de uma grande variedade de fungos dematiáceos (Quadro 65-1). As infecções causadas por esses organismos variam desde fungemia relacionada com cateteres e peritonite a infecções mais localizadas envolvendo pulmões, pele, seios paranasais e até sepse fúngica. Muitos desses fungos foram considerados não patogênicos e agora são agentes reconhecidos de micoses invasivas em pacientes comprometidos. Estimativas de incidências anuais de micoses menos comuns eram praticamente inexistentes; entretanto, dados de uma pesquisa com base na população e conduzida pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos EUA indicam que, anualmente, a mucormicose (zigomicose) ocorre a uma taxa de 1,7 para cada milhão de pessoas por ano, hialo-hifomicose (Fusarium, Sarocladium etc.) a uma taxa de 1,2 por milhão de pessoas, e feo-hifomicose (fungos filamentosos dematiáceos) a uma taxa de 1,0 infecção por milhão de pessoas.



Fatores de Predisposição para Micoses Oportunistas

Fator	Possível Papel na Infecção	Principais Patógenos Oportunistas
Antimicrobianos (número e duração)	Promove colonização fúngica Fornece acesso intravascular	Candida spp., outros fungos leveduriformes
Corticosteroide adrenal	Imunossupressão	Cryptococcus neoformans, Aspergillus spp., Mucormicetos e outros fungos filamentosos, pneumocistos
Quimioterapia	Imunossupressão	Candida spp., Aspergillus spp., pneumocistos
Processos malignos hematológicos e de órgãos sólidos	Imunossupressão	Candida spp., Aspergillus spp., Mucormicetos, outros fungos filamentosos e leveduriformes, pneumocistos
Colonização prévia	Translocação através da mucosa	Candida spp.
Cateter de demora (venoso central, transdutor de pressão, de Swann-Ganz)	Acesso vascular direto Produto contaminado	Candida spp., outros fungos leveduriformes
Nutrição parenteral total	Acesso vascular direto Contaminação de solução	Candida spp., Malassezia spp., outros fungos leveduriformes
Neutropenia (leucócitos < 500/mm ³)	Imunossupressão	Aspergillus spp., Candida spp., outros fungos filamentosos e leveduriformes
Cirurgia extensa ou queimaduras	Via de infecção Acesso vascular direto	Candida spp., Fusarium spp., Mucormicetos
Ventilação mecânica	Via de infecção	Candida spp., Aspergillus spp.
Hospitalização ou permanência em unidade de terapia intensiva	Exposição a patógenos Exposição a fatores de risco adicionais	Candida spp., outros fungos leveduriformes, Aspergillus spp.
Hemodiálise, diálise peritoneal	Via de infecção Imunossupressão	Candida spp., Rhodotorula spp., outros fungos leveduriformes
Desnutrição	Imunossupressão	Pneumocystis, Candida spp., Cryptococcus neoformans
Infecção por HIV/AIDS	Imunossupressão	Cryptococcus neoformans, Pneumocystis, Candida spp., Microsporídios
Extremos de idade	Imunossupressão Numerosas comorbidades	Candida spp.

AIDS, Síndrome da imunodeficiência adquirida; HIV, vírus da imunodeficiência humana.



Quadro 65-1 Agentes de Micoses Oportunistas*

Candida spp.

- C. albicans
- C. glabrata
- C. parapsilosis
- C. tropicalis
- C. krusei
- C. lusitaniae
- C. guilliermondii
- C. dubliniensis
- C. rugosa

Cryptococcus neoformans e Outros Fungos Leveduriformes Oportunistas

C. neoformans/gattii

Malassezia spp.

Trichosporon spp.

Rhodotorula spp.

Blastoschizomyces capitatus

Microsporídios

Pneumocystis jirovecii

Aspergillus spp.

 $A.\ fumigatus$

A. flavus

A. niger

A. versicolor

A. terreus

Mucormicetos

Rhizopus. spp.

Mucor spp.

Rhizomucor spp.

Lichtheimia corymbifera

Cunninghamella spp.

Outros Fungos Filamentosos Hialinos

Fusarium spp.

Sarocladium spp.

Scedosporium spp.

Paecilomycess pp.

Trichoderma spp.

Scopulariopsis spp.

Fungos Filamentosos Dematiáceos

Alternaria spp.

Bipolaris spp.

Cladophialophora spp.

Curvularia spp.

Exophiala spp.

Exserohilum spp.

Wangiella spp.

Devido à complexidade dos pacientes em alto risco de contrair infecção e à variedade de patógenos fúngicos, as micoses oportunistas representam um desafio diagnóstico e terapêutico considerável. O diagnóstico depende de uma suspeita clínica altamente significativa (é preciso pensar: essa doença é causada por **fungo**) e da obtenção de material apropriado para cultura e histopatologia. O isolamento e a identificação de organismos infectantes são muito importantes no tratamento de infecções causadas por fungos oportunistas menos comuns. Alguns desses micro-organismos não são sensíveis à terapia padrão com azóis, equinocandinas e derivados poliênicos (Cap. 61); pode sernecessário o uso de outros antifúngicos para complementar o tratamento cirúrgico e o restabelecimento das defesas do hospedeiro.

Candidíase

Candida é claramente o mais importante grupo de patógenos fúngicos oportunistas. São a terceira causa mais comum para infecções sanguíneas (BSI, do inglês, bloodstream infections), excetuando-se aquelas causadas por qualquer patógeno Gram-negativo individual (Tabela 65-2, Caso Clínico 65-1). A partir de 1980, a frequência de BSI por Candida vem aumentando regularmente em todos os hospitais e em todas as faixas etárias.

^{*} Esta lista não inclui todos os agentes de micoses oportunistas.



Infecções Nocosomiais Hematogênicas: Patógenos Associados Comumente Envolvidos — National Healthcare Safety Network

Classificação	Patógenos	% de Isolados*
1	Staphylococcus coagulase-negativo	34,4
2	Enterococcus spp.	16,0
3	Candida spp.	11,8
4	Staphylococcus aureus	9,9
5	Klebsiella pneumoniae	4,9
6	Enterobacter spp.	3,9
7	Pseudomonas aeruginosa	3,1
8	Escherichia coli	2,7
9	Acinetobacter baumannii	2,2
10	Klebsiella oxytoca	0,9

Dados de Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al: Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007, Infect Control Hosp Epidemiol 29:996–1011, 2008

^{*} Porcentagem sobre um total de 11.428 infecções.



Caso Clínico 65-1 Candidemia

Posteraro et al. (*J Clin Microbiol* 44:3046–3047, 2006) descreveram um caso de fungemia recorrente em uma mulher de 35 anos. Ela foi atendida durante a 5ª semana de gestação após uma inseminação intrauterina. Ela apresentava febre, taquicardia e hipotensão. A contagem de leucócitos era de 23.500/µl com 78% de neutrófilos. Ocorreu um aborto espontâneo. Uma corioamnionite grave foi diagnosticada; culturas foram realizadas a partir de *swab* vaginal, amostras de placenta, tecido fetal e sangue. A paciente foi tratada com agentes antibacterianos de amplo espectro. Após 5 dias, não houve melhora clínica. A levedura *Candida glabrata* cresceu nas culturas de sangue e de amostra da placenta, sendo também isolada da cultura de material vaginal da paciente. A concentração inibitória mínima (CIM) de fluconazol (antifungigrama) indicou que o organismo era suscetível, e a paciente foi tratada com este antifúngico. Quatro semanas depois ela apresentou completa resolução dos sintomas e a erradicação do fungo de sua corrente sanguínea. O tratamento com antifúngico foi suspenso, a paciente recebeu alta e foi para casa, onde esteve bem. Seis meses depois, foi internada de novo com febre, calafrios e fadiga. A contagem de leucócitos estava alta, com 21.500/µl e 73% de neutrófilos. Após consecutivas hemoculturas, houve resultado positivo para *C. glabrata*, que também foi encontrada em culturas de fluido vaginal. Todos os isolados encontrados eram resistentes ao fluconazol. Com base nesses achados, a paciente foi tratada com anfotericina B, apresentando melhora em 1 semana. Após 1 mês de tratamento com anfotericina B, os resultados das hemoculturas foram negativos e ela recebeu alta do hospital. Três anos depois, a paciente ainda estava livre de qualquer sinal da doença.

Este é um caso incomum, em que a paciente não era imunossuprimida e apresentou candidemia recorrente por *C. glabrata*. O uso de fluconazol no início da terapia, apesar de parecer eficaz, induziu uma maior expressão de bombas de efluxo de medicamentos no organismo, permitindo que novos isolados se tornassem resistentes ao fluconazol e a outros azóis.

Apesar de mais de 100 espécies de *Candida* terem sido descritas, poucas foram implicadas em infecções clínicas (Quadro 65-1). *C. albicans* é a espécie mais comumente isolada a partir de material clínico e responde, em geral, por 90% a 100% dos isolados provenientes de mucosas e por 40% a 70% dos isolados oriundos de BSI, dependendo do serviço clínico e da doença predisponente do paciente (Tabela 65-3). Cerca de 95% das BSI por *Candida* são causadas por quatro espécies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (Tabela 65-3). Entre estas espécies, apenas *C. glabrata* pode ser considerada verdadeiramente um "patógeno emergente" causador de BSI, em parte por causa da sua resistência adquirida e intrínseca aos azóis e antifúngicos geralmente utilizados. Os 5% restantes de BSI por *Candida* englobam 12 a 14 espécies, incluindo *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* e *C. rugosa*, entre outras (Quadro 65-1). Embora estas sejam espécies "raramente" envolvidas na etiologia das candidíases, muitas têm sido observadas em grupamentos nosocomiais e/ou apresentaram resistência inata ou adquirida a um ou mais agentes antifúngicos estabelecidos.

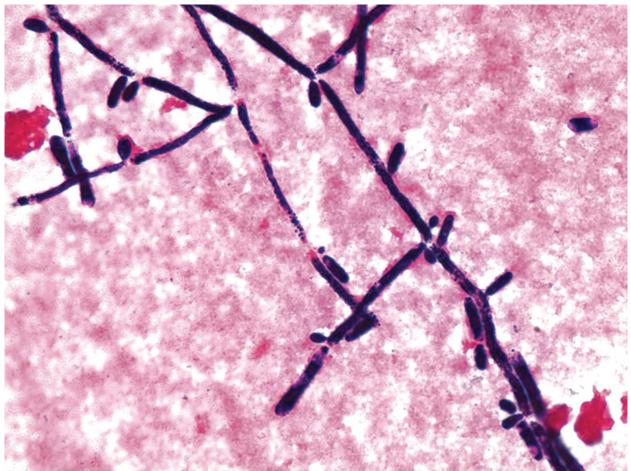
Distribuição de Espécies de Candida Isoladas de Amostras de Sangue (Infecção Sistêmica) por Serviço Clínico nos Estados Unidos*

	% de Isolados por Espécies e Serviço Clínico (N° Testado)							
Espécies	MEDG (2.554)	HEME (455)	TCT (165)	UTIN (62)	TOS (292)	TS (629)	CIRURG (1.175)	HIV/AIDS (82)
C. albicans	41,3	22,0	17,6	54,8	33,2	42,1	44,5	40,2
C. glabrata	24,8	25,5	32,7	1,6	38,4	28,9	23,7	22,0
C. parapsilosis	14,5	12,3	13,9	30,6	11,3	11,6	15,4	9,8
C. tropicalis	7,7	15,4	7,9	0,0	5,5	7,6	7,1	7,3
C. krusei	2,7	16,0	19,4	0,0	2,7	2,2	1,4	3,7
Outras [†]	8,9	8,8	8,5	12,9	8,9	16,1	7,6	17,1

CIRURG, cirúrgico (não transplante); HEME, processos malignos hematogênicos; HIV/AIDS, vírus da imunodeficiência humana/síndrome da imunodeficiência adquirida; MEDG, Medicina geral; UTIN, unidade de tratamento intensivo neonatal; TCT, transplante de células-tronco; TOS, transplante de órgãos sólidos; TS, tumor sólido.

Morfologia

Todas as espécies de Candida apresentam-se sob a forma de células leveduriformes ovais (3 a 5 µm), que produzem brotamentos ou blastoconídios. As espécies de Candida, exceto C. glabrata, produzem hifas verdadeiras e pseudo-hifas (Fig. 65-1; também Cap. 57, Fig. 57-2A e Cap. 60, Fig. 60-1). Além disso, C. albicans forma tubos germinativos (Cap. 57, Fig. 57-2) e clamidoconídios terminais de paredes espessas (Fig. 65-2). C. glabrata, a segunda espécie mais comum de Candida em muitos ambientes, é incapaz de formar pseudo-hifas, hifas verdadeiras ou tubos germinativos. Em cortes histológicos, Candida spp. são fracamente coradas com hematoxilina e eosina (H&E) e coram-se melhor com ácido periódico de Schiff (PAS), prata metenamina de Gomori (GMS) e a coloração de Gridley para fungos.



Blastoconídios e pseudo-hifas de Candida tropicalis. (Coloração de Gram, ampliado 1.000 vezes.)

^{*} Dados reunidos a partir de Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, et al: Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance) registry, 2004-2008, *Diagn Microbiol Infect Dis* 74:323–331, 2012.

[†] Outras: 17 casos de C. lusitaniae, 5 de C. guilliermondii, 7 de C. dubliniensis, 11 outros e 3 isolados de Candida spp. desconhecidas.

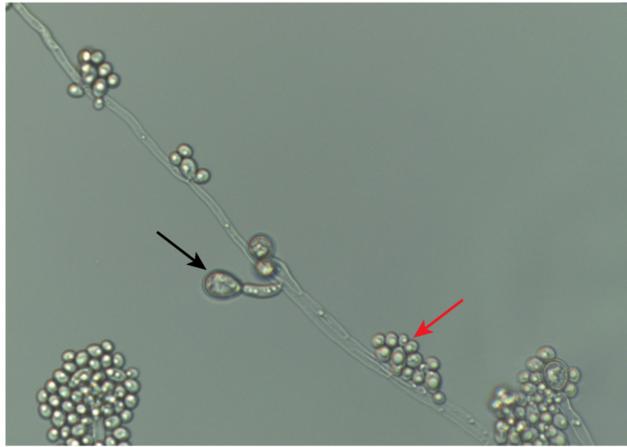


FIGURA 65-2 Micromorfologia de Candida albicans em ágar-fubá mostrando clamidoconídios largos (seta preta), blastoconídios (seta vermelha), hifas e pseudo-hifas.

Em cultura, Candida spp. formam colônias brancas, lisas e convexas. C. albicans e outras espécies podem também sofrer alterações de fenótipo, em que uma única cepa de Candida pode se alterar de forma reversível entre diversos tipos morfológicos, desde as típicas colônias brancas e lisas, compostas predominantemente de células leveduriformes e em brotamento, até colônias muito "felpudas" ou "cabeludas", compostas principalmente por hifas ou pseudo-hifas. A frequência do fenômeno da alteração fenotípica é muito alta para resultar de mutações genéticas, e muito baixa para ser atribuída à conversão de massa, por meio da qual todas as células da população mudam seu fenótipo em resposta a sinais provenientes do ambiente. É possível que essa conversão funcione como um sistema-mestre na C. albicans, e em outras espécies, como uma forma das células responderem de modo individual e rápido às mudanças do microambiente local. Já foi defendido que a alteração de fenótipo explicaria a capacidade da C. albicans de sobreviver em diferentes micronichos ambientais no hospedeiro humano.

Epidemiologia

Sabe-se que *Candida* spp. colonizam humanos e outros animais de sangue quente. Como tais, são encontradas no homem e na natureza em todo o mundo. O primeiro ponto de colonização é o trato GI, que vai da boca até o reto. Elas também podem ser comensais na vagina e na uretra, na pele e sob as unhas das mãos e dos pés. *C. albicans*, o agente etiológico mais comum da candidíase humana, além de ser encontrada em humanos e animais, já foi isolada do ar, da água e do solo.

Estima-se que, em cerca de 25% a 50% das pessoas sadias, a *Candida* faça parte da microbiota natural da cavidade oral, sendo 70% a 80% dos isolados constituídos por *C. albicans*. Estas taxas aumentam significativamente em pacientes hospitalizados, portadores de infecção pelo HIV, usuários de próteses dentárias, diabéticos, pacientes sob quimioterapia antineoplásica, pacientes sob terapia com antibióticos e crianças. Realmente, qualquer ser humano pode ser portador de uma ou mais espécies de *Candida* em seu trato GI, e os níveis da colonização podem aumentar até serem detectáveis como doenças ou levar a circunstâncias em que os mecanismos de defesa microbiana do hospedeiro sejam comprometidos.

A principal fonte de infecção por *Candida* spp., desde a doença da mucosa superficial ou cutânea até a disseminação hematogênica, é o próprio paciente. Por isso, a maioria das candidíases representa uma infecção **endógena**, na qual a microbiota normalmente comensal do hospedeiro se aproveita da "oportunidade" para causar a infecção. Para tal, deve ocorrer um enfraquecimento da barreira contra *Candida* do hospedeiro. Nos casos de BSI por *Candida*, a transferência do micro-organismo da mucosa do trato GI para a corrente sanguínea requer um crescimento exacerbado e prévio no número de leveduras no seu *habitat* comensal, em conjunto com uma brecha na integridade da mucosa gastrointestinal.

A transmissão **exógena** de *Candida* também pode ser responsável por grande parte de certos tipos de candidíase. Exemplos incluem o uso de soluções contaminadas, nutrição parenteral, transdutores de pressão vascular, válvulas cardíacas e córneas. A transmissão de *Candida* spp. de profissionais da área de saúde para pacientes e de paciente para paciente foi muito bem documentada, em especial no ambiente das unidades de terapia intensiva. As mãos desses profissionais são potenciais reservatórios para a transmissão nosocomial de *Candida* spp.

Entre as muitas espécies de *Candida* que podem acometer o homem (Quadro 65-1 e Tabela 65-3), *C. albicans* é o agente mais comum nas várias formas clínicas dessa infecção. As infecções nas áreas genital, cutânea e oral quase sempre envolvem *C. albicans*. Muitas cepas de *Candida* spp. podem causar BSI e outras formas invasivas de candidíase, e ainda que geralmente *C. albicans* predomine (Tabela 65-3), a

frequência com que esta e outras espécies de *Candida* são isoladas do sangue varia consideravelmente, de acordo com o serviço clínico (Tabela 65-3), a idade do paciente (Fig. 65-3), e o ambiente local, regional ou global (Tabela 65-4). Enquanto *C. albicans* e *C. parapsilosis* predominam como agentes de BSI entre lactentes e crianças, em idosos a infecção por essas espécies diminui, havendo um aumento proeminente de infecção por *C. glabrata* em tais pacientes (Fig. 65-3). Da mesma maneira, embora na América do Norte *C. glabrata* seja a segunda espécie mais comumente envolvida em BSI, sua frequência é mais baixa na América Latina, onde *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* são mais comums (Tabela 65-4). As diferenças nos números e tipos de espécies de *Candida* na etiologia das infecções podem ser influenciadas por muitos fatores, como idade do paciente, imunossupressão aumentada, exposição a medicamentos antifúngicos ou diferenças nas técnicas de controle de infecções. Cada um desses fatores, isoladamente ou combinados, pode afetar a prevalência de diferentes *Candida* spp. em cada instituição. Por exemplo, o uso de azóis (p.ex., fluconazol) para profilaxia antifúngica em pacientes com tumores malignos e receptores de transplante de células-tronco pode aumentar a probabilidade de infecções causadas por *C. glabrata* e *C. krusei*, duas espécies com sensibilidade reduzida a essa classe de antifúngicos (Tabela 65-3). Da mesma maneira, falhas na vigilância sanitária quanto a precauções no controle das infecções e no cuidado apropriado de cateteres vasculares podem levar a mais infecções por *C. parapsilosis*, a principal espécie isolada das mãos de profissionais de saúde e causa frequente de fungemia relacionada com cateter.

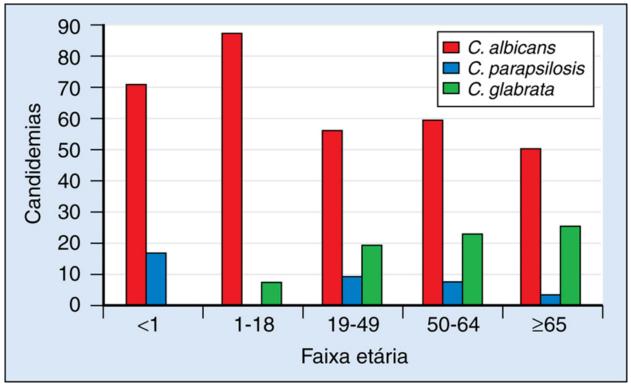


FIGURA 65-3 Porcentagem de todas as candidemias causadas pelas espécies selecionadas de *Candida* em cada faixa etária. Dados de Emerging Infections and Epidemiology of Iowa Organisms Survey, de 1998 a 2001. (Dados de Pfaller MA, Diekema DJ: Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem, *Clin Microbiol Rev* 20:133, 2007.)



Distribuição de Espécies de Candida Envolvidas em Infecção Sistêmica por Região Geográfica

		% de Isolados por Esp		or Esp	écie	
Região	N° de Isolados	CA	CG	CP	CT	CK
Ásia-Pacífico	366	44,8	14,2	25,4	12,0	0,8
Europa	1.097	50,3	16,0	17,8	8,1	2,6
América Latina	433	43,0	8,8	24,0	17,6	1,8
América do Norte	1.211	41,5	25,3	14,3	9,0	3,3
Total	3.107	45,2	18,4	18,2	10,3	2,5

Modificada de Pfaller MA, Messer SA, Woosley LN, et al: Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for clinical opportunistic yeast and mold isolates collected from 2010 to 2011: application of new CLSI clinical breakpoints and epidemiological cutoff values for characterization of geographic and temporal trends of antifungal resistance, *J Clin Microbiol* 51:2571–2581, 2013.

CA, Candida albicans; CG, C. glabrata; CK, C. krusei; CP, C. parapsilosis; CT, C. tropicalis.

As consequências da fungemia por *Candida* em pacientes hospitalizados são graves. Estes se expõem a um risco de morte duas vezes maior no hospital que aqueles com BSI não causadas por *Candida*. Entre todos os pacientes com BSI nosocomial (adquirida no hospital), a candidemia foi considerada um prognóstico independente de morte em hospitais. A natureza grave das doenças apresentadas por muitos desses pacientes compromete as estimativas de mortalidade, mas estudos de comparação com coortes confirmam que a

mortalidade atribuída diretamente à infecção fúngica é alta (Tabela 65-5). Notadamente, a mortalidade não diminuiu desde meados de 1980 até os dias atuais, apesar da implementação de novos agentes antifúngicos com boa atividade contra muitas espécies de *Candida*.



Excesso de Mortalidade Atribuída a Infecções Nosocomiais por Candida e Aspergillus

	Percentual de Morta		e Mortalidade
	Cana	lida*	Aspergillus [†]
Tipo da Taxa de Mortalidade	1988	2001	1991
Taxa bruta de mortalidade			
Casos	57	61	95
Controles	19	12	10
Mortalidade atribuível	38	49	85

^{*} Pacientes com candidemia. Dados de Wey SB, Mori M, Pfaller MA, et al: Hospital-acquired candidemia. The attributable mortality and excess length of stay, *Arch Intem Med* 148:2642–2645, 1988; e Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, et al: Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited, *Clin Infect Dis* 37:1172–1177. 2003.

Sabe-se mais sobre a epidemiologia da candidemia nosocomial que sobre qualquer outra infecção fúngica. O acúmulo de evidências permite propor uma visão geral sobre este tipo de infecção (Fig. 65-4). Certos indivíduos hospitalizados estão claramente sob maior risco de contrair candidemia durante a hospitalização devido ao comprometimento de suas condições: pacientes com tumores malignos e/ou neutropenia, aqueles submetidos à cirurgia do trato GI, bebês prematuros e idosos acima de 70 anos (Tabela 65-1 e Fig. 65-4). Comparados aos indivíduos controlados sem os riscos, fatores ou exposições específicos, a probabilidade desses pacientes já com alto risco de contraírem candidemia no hospital é aproximadamente 2 vezes maior para cada classe de antibiótico recebido, 7 vezes maior caso eles tenham um cateter central, 10 vezes maior se forem encontradas colônias de *Candida* em outros pontos anatômicos e 18 vezes maior se eles tiverem sido submetidos a uma hemodiálise aguda. A hospitalização na unidade de terapia intensiva proporciona uma oportunidade para a transmissão de *Candida* entre os pacientes e já demonstrou ser um fator de risco adicional independente.

[†] Pacientes submetidos a transplante de medula com aspergilose pulmonar invasiva. Dados de Pannuti CS, Gingrich RD, Pfaller MA, e al: Nosocomial pneumonia in adult patients undergoing bone marrow transplantation: a 9-year study, *J Clin Oncol* 9:77–84, 1991.

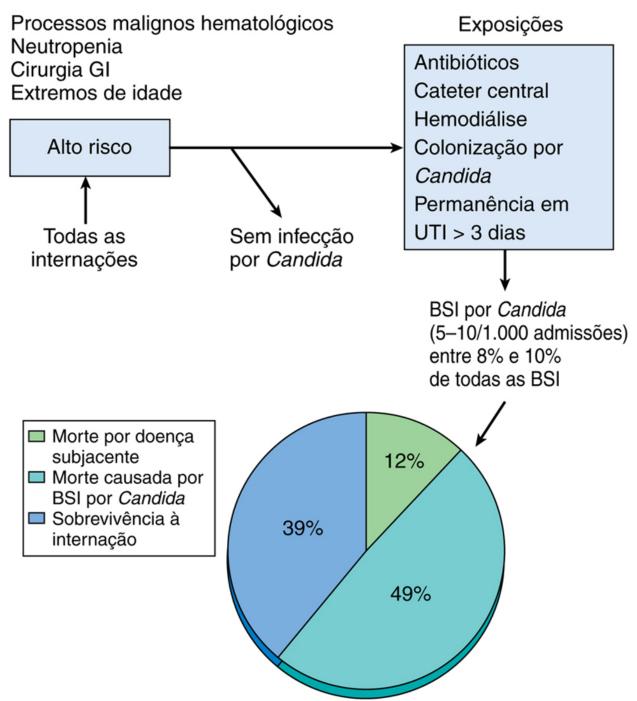


FIGURA 65-4 Visão global da candidemia nosocomial. *BSI*, Infecção sistêmica (do inglês, *blood stream infection*); *GI*, gastrointestinal; *UTI*, unidade de tratamento intensivo. (Modificada de Lockhart SR et al: The epidemiology of fungal infections. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone.)

Os dados epidemiológicos disponíveis indicam que entre 20 e 40 de cada 1.000 pacientes de alto risco expostos aos fatores de risco citados anteriormente contrairão BSI causada por *Candida* spp. (8% e 10% de todas as BSI nosocomiais; Tabela 65-2). Aproximadamente 49% desses pacientes evoluem para óbito devido à infecção e 12% pela doença primária; 39% sobrevivem à hospitalização (Fig. 65-4). Esse quadro não sofreu alterações (e pode estar ainda pior) em relação ao ocorrido em meados de 1980. O resultado para quase metade dos pacientes com candidemia poderia ter melhorado a partir de meios mais eficazes de prevenção, diagnóstico e terapia. Nitidamente, o mais desejável é a prevenção, que pode ter mais sucesso por meio de um controle rigoroso da exposição aos fatores de risco, especialmente no uso de antibióticos de amplo espectro, aperfeiçoamento dos cuidados no uso de cateteres e cumprimento das práticas do controle de infecções.

Síndromes Clínicas

No ambiente certo, *Candida* spp. podem causar infecções clinicamente evidentes quase em qualquer sistema orgânico (Tabela 65-6). As infecções variam desde o acometimento superficial mucocutâneo até uma ampla disseminação envolvendo órgãos-alvo, como fígado, baço, rins, coração e cérebro. Nesse último caso, a mortalidade diretamente atribuível ao processo infeccioso chega a 50% (Tabela 65-5 e Fig. 65-4).

Infecções Causadas por Candida e Fatores Predisponentes Relacionados

Tipo de Doença	Fatores Predisponentes
Infecção orofaríngea	Extremos etários
	Uso de próteses dentárias
	Diabetes melito
	Uso de antibióticos
	Radioterapia para câncer de cabeça e pescoço
	Esteroides inalados e sistêmicos
	Quimioterapia citotóxica
	Infecção por HIV
	Processos malignos hematogênicos
	Transplante de órgãos sólidos ou de células-tronco
Esofagite	Corticosteroides sistêmicos
-	AIDS
	Câncer
	Transplante de órgãos sólidos ou de células-tronco
Infecção vulvovaginal	Contraceptivos orais
	Gravidez
	Diabetes melito
	Corticosteroides sistêmicos
	Infecção por HIV
	Uso de antibióticos
Infecções da pele e das unhas	Umidade e oclusão Locais
, r	Imersão das mãos em água
	Doença vascular periférica
Candidíase crônica mucocutânea	Defeitos de linfócitos T
Infecção do trato urinário	Cateter urinário
,	Obstrução urinária
	Procedimentos urinários
	Diabetes melito
Pneumonia	Aspiração (rara)
Endocardite	Cirurgia de grande porte
	Doença valvular preexistente
	Próteses valvulares
	Uso de medicamentos intravenosos
	Uso de cateter central por longo tempo
Pericardite	Cirurgia torácica
Tericardite	Imunossupressão
Infecção do SNC	Cirurgia do SNC
intecção do Sive	Desvio ventriculoperitoneal
	Cirurgia ocular
Infocção ocular	Trauma
Infecção ocular	
Infocções dos esses e entirale - = -	Cirurgia
Infecções dos ossos e articulações	Trauma Injecções intra articulares
	Injeções intra-articulares
T. (~ 1.1 · 1	Pé diabético
Infecção abdominal	Perfuração
	Cirurgia abdominal
	Fístulas

Tipo de Doença	Fatores Predisponentes
	Pancreatite
	Diálise peritoneal contínua ambulatorial
Infecção hematogênica	Transplante de órgãos sólidos
	Colonização
	Uso prolongado de antibióticos
	Cirurgia abdominal
	Apoio de tratamento intensivo
	Nutrição parenteral total
	Hemodiálise
	Imunossupressão
	Extremos de idade
	Transplante de células-tronco
	Cateteres vasculares

Modificada de Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ: Candida. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: Clinical mycology, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone.

AIDS, Síndrome da imunodeficiência adquirida; HIV, vírus da imunodeficiência humana; SNC, sistema nervoso central;.

Infecções da mucosa por *Candida* spp. (conhecidas como "sapinho") podem se limitar à orofaringe ou se estender por todo o trato GI. Nas mulheres, a mucosa vaginal é também um local comum de candidíase. Essas infecções geralmente são observadas em pessoas com imunossupressão local ou generalizada ou nos ambientes que favorecem o crescimento exagerado da *Candida* (Tabela 65-6). Nesse tipo de infecção é comum aparecerem manchas brancas semelhantes a "queijo *cottage*" na superfície da mucosa. Outras apresentações incluem o tipo **pseudomembranoso**, no qual a mucosa sangra quando é raspada; o tipo **eritematoso**, representado por áreas planas, vermelhas e ocasionalmente doloridas; a **leucoplasia** por *Candida*, que é o espessamento esbranquiçado e irremovível do epitélio, causada por *Candida* spp.; e a **quelite angular**, fissuras dolorosas localizadas nos cantos da boca.

Candida spp. pode causar infecção localizada nas dobras cutâneas onde a pele é ocluída e úmida (p.ex., região inguinal, axilas, espaços entre os pododáctilos e dobras da mama). Essas infecções se apresentam como erupções vesiculopustulares, eritematosas e pruriginosas.

Quadros de onicomicose e paroníquia podem ocorrer num ambiente de microbiota mista, incluindo *Candida*. As espécies mais envolvidas são *C. albicans, C. parapsilosis* e *C. guilliermondii*.

Lesões cutâneas também podem aparecer durante o curso de uma disseminação hematogênica. Essas lesões são de extrema importância para o diagnóstico, pois a biópsia das mesmas pode levar ao isolamento do agente, permitindo o diagnóstico etiológico de um processo sistêmico.

A candidíase mucocutânea crônica é um quadro raro provocado por deficiência na capacidade de resposta dos linfócitos T às *Candida* spp. Esses pacientes sofrem de graves e irreversíveis lesões mucocutâneas causadas por *Candida*, que incluem o envolvimento das unhas e vaginite. São lesões granulomatosas que podem se tornar significativamente extensas, chegando a desfigurar o paciente.

O envolvimento do trato urinário por *Candida* spp. pode se caracterizar pela colonização assintomática da bexiga até abscessos renais devido à disseminação hematogênica. A colonização da bexiga por *Candida* spp. nem sempre é notada, a menos que o paciente precise de um cateter de longa permanência, seja diabético, sofra de obstrução urinária ou tenha passado por procedimentos urinários anteriores. A colonização benigna da bexiga é mais comum nesses quadros, mas podem ocorrer quadros de uretrite ou cistite. O acometimento renal, proveniente de disseminação hematogênica, pode resultar em abscesso renal, necrose papilar ou em "bola fúngica", na uretra ou na pelve renal.

A peritonite por *Candida* pode ser vista em casos de diálise peritoneal crônica ambulatorial, ou após cirurgia do trato GI, vazamento anastomótico ou perfuração do intestino. Essas infecções podem permanecer localizadas no abdome, afetar órgãos adjacentes ou levar à candidemia.

A candidíase sistêmica pode ser aguda ou crônica, resultando geralmente em colonização de tecidos profundos, como vísceras abdominais, coração, olhos, ossos e articulações e o cérebro. A candidíase hepatoesplênica crônica pode ocorrer após fungemia oculta ou clinicamente perceptível e se apresenta como um processo indolente marcado por febre, níveis elevados de fosfatase alcalina e lesões múltiplas no fígado e no baço.

A candidíase no sistema nervoso central (SNC) pode ocorrer como resultado da doença hematogênica ou estar associada a procedimentos neurocirúrgicos ou desvio ventriculoperitoneal. Clinicamente, esse processo pode simular uma meningite bacteriana, ou apresentar curso indolente ou crônico.

Os processos cardíacos envolvendo *Candida* spp. resultam, em sua maioria, da colonização de prótese ou válvula cardíaca danificada, do miocárdio ou do espaço pericárdico. A literatura relata casos de implantação de válvulas contaminadas com *C. parapsilosis*. A apresentação clínica lembra a endocardite bacteriana, com febre e alteração do murmúrio cardíaco. As vegetações são classicamente grandes e friáveis, e as embolias são mais comuns em endocardite causada por *Candida* spp. que nas endocardites bacterianas.

O envolvimento ocular é frequente em pacientes com candidíase hematogênica, que desenvolvem quadros de coriorretinite e endoftalmite. Por essa razão, todos os pacientes com risco de candidemia devem passar por cuidadosos e frequentes exames oftalmológicos. Também pode ocorrer ceratite traumática.

Infecções nos ossos e articulações causadas por *Candida* spp. são quase sempre sequelas de candidemia. Frequentemente, essas infecções aparecem vários meses após o tratamento bem-sucedido da candidíase sistêmica. Similarmente, a candidemia oculta ou "transitória" pode resultar na colonização de um foco ósseo que mais tarde se torna clinicamente aparente. A osteomielite vertebral é comum, com dor local e febre baixa.

Ainda que a candidíase hematogênica seja, com mais frequência, uma infecção endógena oriunda dos tratos gastrointestinal ou genitourinário, ela também pode resultar da contaminação de um cateter vascular. Os micro-organismos transferidos para o lúmen do

cateter podem formar um biofilme em seu interior e, em seguida, disseminar-se na circulação. Embora essas infecções não sejam menos graves que aquelas provenientes de uma fonte endógena, elas podem ser tratadas com um pouco mais de sucesso, já que a remoção do cateter retira essencialmente o foco da infecção. Naturalmente, se a contaminação do cateter resultou na colonização de órgãos distantes, as consequências e os problemas no tratamento da infecção serão os mesmos que aqueles advindos de infecções oriundas de fontes endógenas.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial da candidíase envolve a obtenção de material clínico apropriado, submetido ao exame microscópico direto e cultura (Cap. 60). Raspados de lesões cutâneas ou da mucosa podem ser examinados diretamente após tratamento com hidróxido de potássio (KOH) a 10% ou 20%, contendo calcoflúor branco. As leveduras em brotamento e as pseudo-hifas são facilmente identificáveis no exame com microscópio de fluorescência (Fig. 68-1). A cultura em meio micológico padrão permitirá o isolamento do microorganismo para subsequente identificação quanto à espécie. Além disso, essas amostras são semeadas diretamente em meio cromogênico seletivo, como CHROMagar Candida, o qual permite a detecção de espécies mistas de *Candida* dentro da mesma amostra e a rápida identificação de *C. albicans* (colônias verdes) e *C. tropicalis* (colônias azuis) baseando-se em sua aparência morfológica (Fig. 65-5).

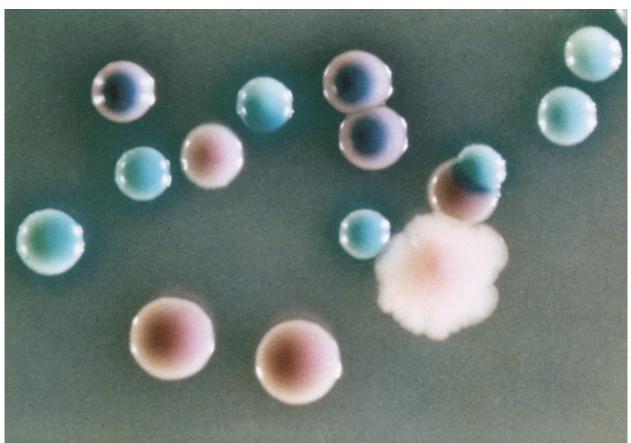


FIGURA 65-5 Diferenciação das espécies de *Candida* através do cultivo em CHROMagar Candida. As colônias verdes são *Candida albicans*, as azul-acinzentadas são *C. tropicalis* e as colônias largas, rugosas e de cor rosa-pálida são *C. krusei*. As colônias lisas, róseas ou cor de malva são outras espécies de levedura (somente *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* podem ser reconhecidas de modo confiável nesse meio; outras espécies apresentam colônias com cor variando entre branco, rosa e cor de malva). (De Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone.)

Todos os outros tipos de infecção exigem cultura para diagnóstico, a menos que possam ser obtidas amostras de tecido para exame histopatológico (Cap. 60). Sempre que possível, lesões de pele devem ser biopsiadas e cortes histológicos devem ser corados com GSM ou outra coloração específica para fungo. A visualização das leveduras em brotamento ou das pseudo-hifas é o suficiente para o diagnóstico da candidíase (Fig. 65-6). Culturas de sangue, de tecidos e de fluidos corporais estéreis também devem ser realizadas. A identificação dos isolados de *Candida* em nível de espécie é fundamental, devido às diferenças na resposta aos diferentes agentes antifúngicos (Cap. 61). Isso pode ser feito como descrito no Capítulo 60, com o teste de tubo germinativo (*C. albicans*) por vários meios e testes cromogênicos (Fig. 65-5), por hibridização fluorescente *in situ* (PNA-FISH) e por meio dos painéis de assimilação de açúcar disponíveis no mercado. Como alternativa, o uso de proteômica fornece um meio rápido, preciso e eficiente para a identificação de espécies.

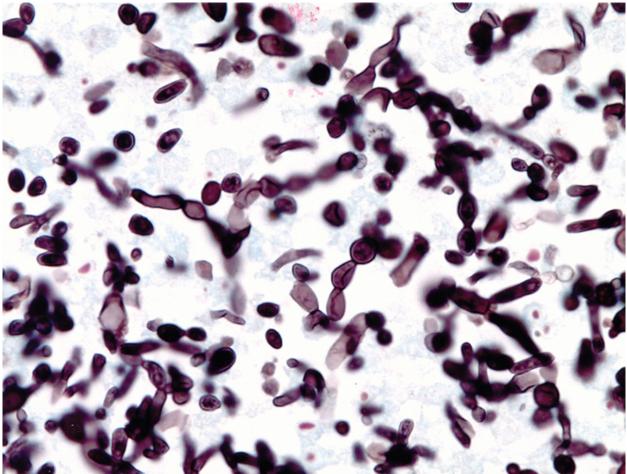


FIGURA 65-6 Candida corada com prata metenamina de Gomori (GMS) demonstrando blastoconídios e pseudo-hifas (ampliado 1.000 vezes).

Os marcadores imunológicos, bioquímicos e moleculares estão descritos no Capítulo 60. Embora esses métodos não estejam amplamente disponíveis na atualidade, os avanços recentes na tecnologia de detecção direta guardam uma grande promessa para o diagnóstico rápido da doença invasiva.

Tratamento, Prevenção e Controle

Existem diversas opções de tratamento para a candidíase (Cap. 61). Infecções da mucosa ou cutâneas podem ser tratadas com medicamentos tópicos diversos, sob a forma de cremes, loções, pomadas e supositórios contendo vários agentes antifúngicos à base de azóis (Tabela 61-1). A terapia sistêmica oral dessas infecções pode ser realizada tanto com fluconazol quanto com itraconazol.

A colonização da bexiga ou cistite pode ser tratada com instilação direta de anfotericina B (lavagem de bexiga) ou por administração oral de fluconazol. No entanto, ambos os tratamentos serão ineficientes se o cateter da bexiga não puder ser removido.

Infecções mais profundas exigem terapia sistêmica, e a escolha do tipo de terapia depende do tipo de infecção, da espécie e do estado geral do hospedeiro. Em muitas situações, fluconazol por via oral pode ser extremamente eficiente para o tratamento da candidíase. Pode ser usado nas peritonites, assim como em terapia de longa duração de doença invasiva após um curso terapêutico inicialmente venoso. O fluconazol é eficaz quando administrado por via venosa para o tratamento da candidíase em pacientes não neutropênicos. Pacientes que contraem candidemia enquanto sob profilaxia com fluconazol ou aqueles com infecção causada por *C. krusei* ou *C. glabrata* resistente ao fluconazol podem ser tratados com anfotericina B (convencional ou formulação lipídica) ou com uma equinocandina (anidulafungina, caspofungina ou micafungina). Sendo assim, quando *C. glabrata* e *C. krusei* são possíveis agentes etiológicos (p.ex., na terapia/profilaxia com fluconazol ou uma situação endêmica), a terapia inicial com anfotericina B ou equinocandina é recomendada, com troca para fluconazol (menos tóxico que a anfotericina B, mais barato e disponível em via oral, ao contrário da equinocandina), com base na identificação da espécie e nos resultados dos testes de sensibilidade. Em todos os casos, deve-se priorizar a remoção do foco da infecção, se possível. Por isso, os cateteres vasculares devem ser removidos ou trocados, os abscessos devem ser drenados e qualquer outro material potencialmente infectado deve ser removido até a maior extensão possível. Dessa maneira, deve-se cuidar da reconstituição do sistema imunológico do paciente.

Como na maioria das doenças infecciosas, a prevenção é preferível em relação ao tratamento de candidíase estabelecida. Para isso, é obrigatório evitar o uso de agentes antimicrobianos de amplo espectro, manipular cuidadosamente os cateteres e seguir rigorosamente as regras de controle de infecções. A diminuição da colonização fornecida pela profilaxia com fluconazol mostrou-se eficaz quando aplicada em grupos de alto risco **específicos**, como os de pacientes receptores de BTM e de transplante fígado. Essa profilaxia apresenta o risco de selecionar, ou até criar, cepas ou espécies resistentes ao agente ministrado. De fato, é o que ocorreu em certas instituições com *C. glabrata* e *C. krusei*, patógenos emergentes resistentes ao fluconazol, mas o benefício geral em grupos de pacientes de alto risco é compensatório. A profilaxia antifúngica, entretanto, é problemática e não deve ser aplicada a outros grupos sem que seja realizado cuidadoso estudo, avaliando riscos e benefícios, a fim de identificar os pacientes que provavelmente serão beneficiados por este tipo de conduta terapêutica.

Micoses Oportunistas Causadas por *Criptococcus neoformans* e Outras Leveduras não Candida

Além das espécies de *Candida*, capazes de tirar proveito de condições imunossupressoras e dos danos produzidos por aparelhos invasivos e pelo uso de antibióticos de amplo espectro, há alguns fungos leveduriformes não *Candida* que encontram uma "oportunidade" de colonizar e infectar pacientes imunossuprimidos. Esses organismos podem ocupar nichos ambientais ou ser encontrados na comida e água e ainda podem fazer parte da microbiota normal humana. A lista de leveduras oportunistas é longa, mas a discussão será limitada a dois patógenos principais, *C. neoformans* e *Cryptococcus gattii*, e a outros quatro que representam problemas em particular como patógenos oportunistas: *Malassezia* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp. e *Blastoschizomyces capitatus* (teleomorfo, *Dipodascus capitatus*).

Criptococose

A criptococose (Caso Clínico 65-2) é uma micose oportunista causada por basidiomicetos leveduriformes encapsulados, denominados *C. neoformans* e *C. gattii.* O *C. neoformans* é distribuído por todo o mundo e encontrado como um saprófita ubíquo no solo, especialmente aquele enriquecido com excrementos de pombos. *C. neoformans* inclui os sorotipos capsulares A, D e AD, enquanto *C. gattii* inclui os sorotipos B e C. *C. neoformans* ainda é dividido em duas variações: *var. grubii* (sorotipo A) e var. *neoformans* (sorotipo D).



Caso Clínico 65-2 Criptococose

Pappas et al. (www.FrontlineFungus.org) descreveram um caso de criptococose em um paciente submetido a transplante de coração. O paciente de 56 anos, que havia sido submetido a um transplante de coração 3 anos antes, apresentou novo quadro de celulite em sua perna esquerda e uma leve cefaleia durante 2 semanas. Ele estava em terapia imunossupressiva crônica com ciclosporina, azatioprina e prednisona, e foi internado para administração de antibióticos intravenosos (IV). Apesar de 5 dias com nafcilina IV, não houve sinal de melhora no paciente, e uma biópsia de pele da área da celulite foi realizada para estudos histopatológicos e cultura. Os resultados mostraram a presença de uma levedura compatível a *Cryptococcus neoformans*. Uma punção lombar também foi feita, e o exame do líquido cefalorraquiano (LCR) mostrou que o mesmo estava turvo e com elevada pressão de abertura de 420 mm H₂O. O exame microscópico revelou leveduras encapsuladas com brotamentos. A titulação de antígenos criptocócicos no LCR e no sangue estava marcadamente elevada. *C. neoformans* foi isolado em culturas de sangue, LCR e da biópsia de pele. Foi iniciada então a terapia sistêmica com anfotericina B e fluocitosina. Infelizmente, o paciente apresentou progressivo declínio mental, apesar da intervenção agressiva no controle da pressão intracraniana e da maximização das doses dos antifúngicos. O óbito ocorreu 13 dias após o início da terapia antifúngica. Culturas realizadas a partir do LCR, 2 dias antes do óbito, foram positivas para *C. neoformans*

O paciente neste caso era altamente imunossuprimido e apresentava celulite e cefaleia. Tal quadro deve ser um alerta diante de um patógeno atípico como *C. neoformans*. Devido à alta mortalidade por criptococose, um diagnóstico rápido e preciso é importante. Infelizmente, apesar dos esforços e do uso de terapia agressiva, muitos pacientes nesta situação sucumbirão à infecção.

Morfologia

Microscopicamente, *C. neoformans* e *C. gattii* são leveduras encapsuladas que variam do esférico ao oval, e medem entre 2 e 20 μm de diâmetro. Reproduzem-se por gemulação a partir de uma base relativamente estreita. Via de regra, produzem um único brotamento, mas algumas vezes brotamentos múltiplos ou em cadeias podem estar presentes (Fig. 65-7). Tubos germinativos, hifas e pseudo-hifas geralmente não ocorrem em material clínico.

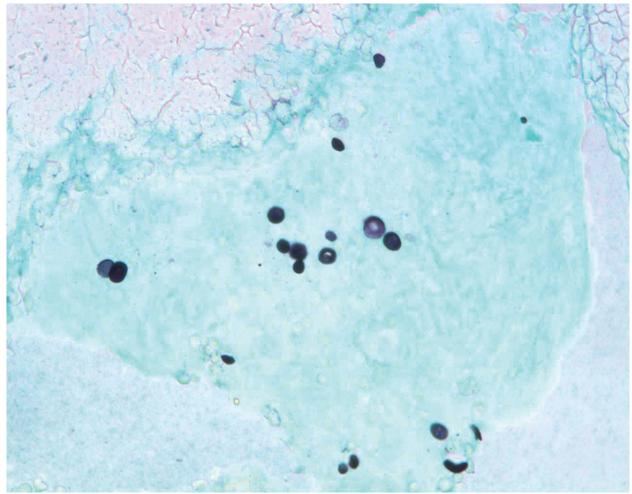


FIGURA 65-7 Cryptoccocus neoformans. Micromorfologia, coloração GMS.

Nos tecidos e nas colorações com tinta nanquim, as células variam em tamanho e formato, que pode ser esférico, oval ou elíptico. São contornadas por zonas esféricas, ou "halos" transparentes, que representam a cápsula polissacarídica extracelular (Fig. 65-8). Essa cápsula é um marcador distintivo, podendo ter diâmetro até cinco vezes maior que o da célula fúngica e pode ser detectada rapidamente com um corante à base de mucina, como a mucicarmina de Mayer (Fig. 65-9). PAS e GMS são colorações que detectam facilmente a levedura, enquanto a coloração por H&E não produz bons resultados. A parede celular do *C. neoformans* contém melanina, o que pode ser demonstrado pela técnica de Fontana-Masson para melanina.

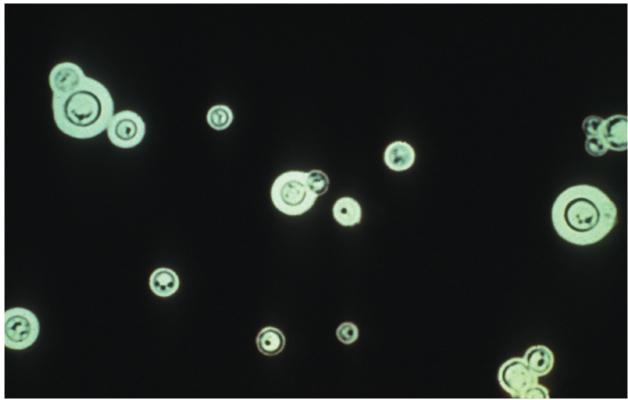


FIGURA 65-8 *Cryptoccocus neoformans*. Preparação com tinta nanquim demonstrando cápsulas largas circundando as leveduras em brotamento (ampliado 1.000 vezes).

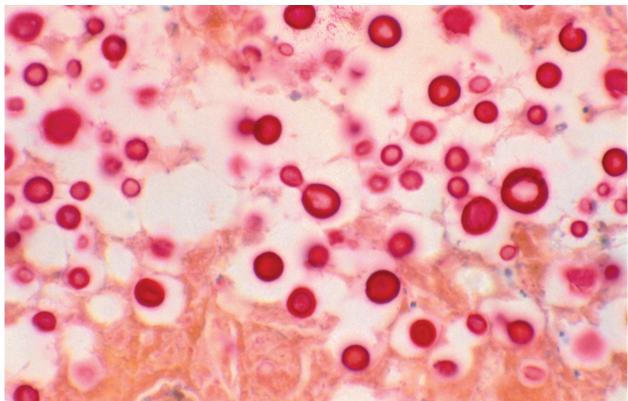


FIGURA 65-9 Cryptococcus neoformans corado com mucicarmina (ampliado 1.000 vezes).

Epidemiologia

A criptococose é comumente adquirida pela inalação de células de *C. neoformans* e *C. gattii* em aerossóis encontrados no ambiente (Fig. 65-10). A partir dos pulmões, o fungo se dissemina em geral para o sistema nervoso central (SNC) e produz a doença clínica em indivíduos suscetíveis. Raramente, a criptococose cutânea primária pode ocorrer também após inoculação transcutânea.

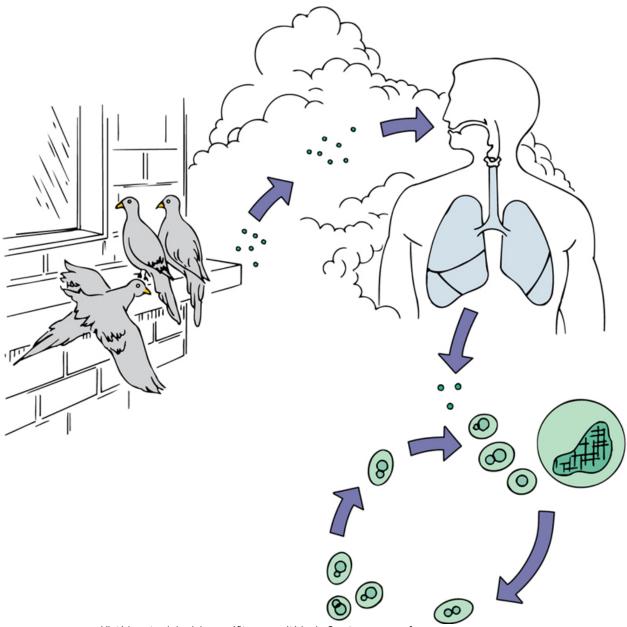


FIGURA 65-10 História natural do ciclo saprófita e parasitário do Cryptoccocus neoformans.

Embora *C. neoformans* e *C. gattii* sejam ambos patogênicos para indivíduos imunocompetentes, o primeiro é mais frequentemente encontrado como um patógeno oportunista. É o agente mais comum de meningite fúngica e tende a ocorrer em pacientes com baixa imunidade celular.

Enquanto *C. neoformans* var. *neoformans* e var. *grubii* são encontrados em todo o mundo associados a solo contaminado com excretas de aves, *C. gattii* é geralmente encontrado em climas tropicais e subtropicais, em associação aos eucaliptos. Um foco endêmico de *C. gattii* foi identificado na Ilha de Vancouver, na Columbia Britânica, e nos estados do Oregon e Washington, estendendo-se para a Califórnia. Casos esporádicos de infecção por *C. gattii* foram detectados em várias áreas diferentes dos Estados Unidos. *C. neoformans* (var. *neoformans* e var. *grubii*) e *C. gattii* causam uma doença similar; entretanto, as infecções por *C. gattii* ocorrem mais facilmente em indivíduos imunocompetentes e estão associadas a uma mortalidade menor, mas produzem graves sequelas neurológicas devido à formação de granuloma no sistema nervoso central.

C. neoformans é o principal patógeno oportunista que acomete os pacientes com AIDS. Os indivíduos que apresentam contagens de linfócitos CD4⁺ inferiores a 200/mm³ estão sujeitos a desenvolver formas sistêmicas de criptococose com o acometimento do SNC. A incidência de criptococose parece ter atingido o pico nos Estados Unidos no início da década de 1990 (65,5 infecções por milhão por ano) e tem, desde então, decaído cada vez mais graças ao amplo uso de fluconazol e, sobretudo, ao sucesso no tratamento da AIDS com novos medicamentos antirretrovirais.

Síndromes Clínicas

A criptococose pode se apresentar como um processo pneumônico ou uma infecção do SNC secundária à disseminação hematogênica e linfática a partir de um foco pulmonar primário, o que é mais frequente. Em alguns casos a micose pode se disseminar amplamente, apresentando formas cutânea, mucocutânea, óssea e visceral.

A forma de apresentação da criptococose pulmonar varia: pode ir desde um processo assintomático até uma pneumonia bilateral fulminante. Infiltrados nodulares podem aparecer em apenas um lobo pulmonar ou ser bilaterais, tornando-se mais difusos em infecções mais graves. A cavitação é rara.

C. neoformans e C. gattii são altamente neurotrópicos, sendo a meningoencefalite a forma mais comum da criptococose. O curso da doença varia, podendo ser crônico, porém é fatal se não tratado. As meninges e o tecido cerebral subjacente são envolvidos, e

clinicamente observam-se febre, dores de cabeça, meningismo, distúrbios visuais, alterações mentais e convulsões. O quadro clínico depende muito do estado imunológico do paciente; tende a ser drasticamente grave em pacientes com AIDS e em outros pacientes seriamente comprometidos imunologicamente, tratados com esteroides ou outros agentes imunossupressivos.

Lesões parenquimatosas (criptococomas) são incomuns em infecções causadas por *C. neoformans*, mas são frequentemente observadas na criptococcose do SNC em pacientes imunocompetentes infectados por *C. gatti*.

Outras manifestações de criptococose disseminada incluem o acometimento cutâneo, que ocorre entre 10% e 15% dos pacientes, produzindo lesões semelhantes a um "molusco contagioso"; infecções oculares que se caracterizam por coriorretinite, vitrite e invasão do nervo ocular; infecções ósseas apresentando lesões nas vértebras e proeminências ósseas; e o envolvimento da próstata, que pode ser um reservatório assintomático da infecção.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da infecção por *C. neoformans* e *C. gattii* pode ser feito por meio da cultura de sangue, líquido cefalorraquiano (LCR) ou outro material clínico (Cap. 60). Um exame microscópico do LCR pode revelar características células leveduriformes encapsuladas e em brotamento. As células do *C. neoformans*, quando presentes no LCR ou outro material clínico, podem ser visualizadas pela coloração de Gram (Cap. 60, Fig. 60-2), com tinta nanquim (Fig. 65-8) ou outros corantes (Fig. 65-7). A cultura do material clínico em meios micológicos de rotina produzirá colônias mucoides compostas por células leveduriformes encapsuladas, com brotamento, e que são urease-positivas em 3 a 5 dias. A identificação da espécie pode ser feita por meio do teste de assimilação de carboidratos, por crescimento em meio de ágar-niger (colônias de *C. neoformans* se tornam marrons a pretas), ou por teste direto para verificação da presença da enzima fenoloxidase (positiva).

É mais comum, no entanto, fazer o diagnóstico da meningite criptocócica por detecção do antígeno polissacarídeo capsular presente no soro ou LCR (Tabela 65-7). Esse procedimento é realizado utilizando-se kits laboratoriais, disponíveis no mercado, para verificação de aglutinação pelo látex ou ensaios imunoenzimáticos. O desenvolvimento de um ensaio de detecção de antígeno de fluxo lateral fornece um potencial teste no ponto de atendimento, para utilização em campo. Esses ensaios têm demonstrado serem rápidos, sensíveis e específicos para o diagnóstico de doença criptocócica devido a C. neoformans e C. gattii (Tabela 65-7). Enquanto o teste de β -d-glucana não é útil para o diagnóstico de criptococose, métodos moleculares, tais como a reação em cadeia da polimerase (PCR), mostram ser uma grande promessa.



Tabela 65-7

Sensibilidade de Detecção de Antígenos, Microscopia em Tinta da China e Cultura de Líquido Cefalorraquiano no Diagnóstico da Meningite Criptocócica

	% Sensibilidade		
Teste	Pacientes com AIDS	Pacientes sem AIDS	
Antígeno	100	86–95	
Tinta naquim	82	50	
Cultura	100	90	

Modificada de Viviani MA, Tortorano AM: Cryptococcus. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: Clinical mycology, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone.

AIDS, Síndrome da imunodeficiência adquirida.

Tratamento

A meningite por *Cryptococcus* (e outras formas disseminadas da doença) é universalmente fatal se não for tratada. Simultaneamente à administração imediata de uma terapia antifúngica apropriada, o controle efetivo da pressão do SNC e síndrome inflamatória de reconstituição imune (SIRI) são cruciais para um tratamento efetivo da meningite por *Cryptococcus*. Todos os pacientes devem receber anfotericina B associada à fluocitosina ativamente por 2 semanas (terapia de indução), seguidas de 8 semanas de consolidação com fluconazol oral (recomendado) ou itraconazol. Pacientes com AIDS geralmente exigem terapia de manutenção com fluconazol ou itraconazol por toda a vida. Em pacientes que não apresentem HIV, o tratamento pode ser suspenso após a terapia de consolidação; contudo, a recidiva pode ser observada em até 26% dos pacientes dentro de 3 a 6 meses após a suspensão da terapia. Por isso, é aconselhável um tratamento de consolidação com um azol por até 1 ano, mesmo em pacientes HIV-negativos.

O tratamento desses pacientes deve estar sob constante avaliação clínica e micológica. Um acompanhamento micológico requer a realização de punção lombar (1) ao final da segunda semana da terapia de indução, para garantir a pureza do LCR, (2) ao final da terapia de consolidação, e (3) sempre que ocorrer uma mudança no quadro clínico durante o acompanhamento. Amostras de LCR coletadas durante este período devem ser semeadas. A determinação de proteínas, glicose, contagem das células e do título de antígeno criptocócico no LCR é útil para avaliar a resposta à terapia, mas não pode predizer os resultados. A falha na purificação do LCR, por volta do 14º dia de terapia, é um indicador altamente significativo de que a terapia de consolidação não será bem-sucedida.

Outras Micoses Causadas por Fungos Leveduriformes

Entre os patógenos leveduriformes não *Candida* e não *Cryptococcus, Malassezia* spp., *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp. e *Blastoschizomyces* capitatus são os mais proeminentes como causadores de infecções nosocomiais, tanto pela dificuldade de detecção quanto por apresentarem problemas com relação à resistência antifúngica.

Infecções causadas por Malassezia spp. (M. furfur e M. pachydermatis) são quase sempre relacionadas com os cateteres e tendem a ocorrer em prematuros ou em outros pacientes recebendo infusões de lipídios. Os dois organismos são leveduras com brotamentos

(Fig. 65-11; também Cap. 62, Fig. 62-2). *M. furfur* é um colonizador da pele e é agente da pitiríase versicolor (Cap. 62), enquanto *M. pachydermatis* é frequentemente o causador de otites em cães, assim como é um comensal da pele humana.

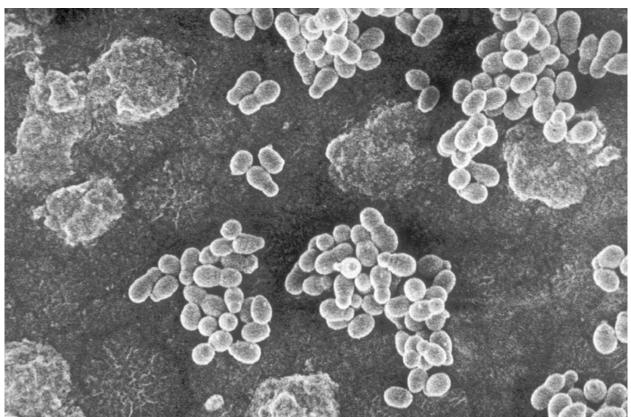


FIGURA 65-11 Micrografia eletrônica de varredura de *Malassezia furfur* aderida ao lúmen de cateter venoso central. (Cortesia de S.A. Messer.)

Entre as espécies de *Malassezia*, *M. furfur* é conhecida por sua necessidade de lipídios exógenos para crescer. Essa exigência, aliada ao seu *habitat* na pele, explica algo de sua epidemiologia, pois infecções nosocomiais causadas por este organismo estão diretamente relacionadas com a administração de suplemento lipídico com um cateter. A *M. pachydermatis*, embora não necessite de lipídios exógenos para crescer, tem seu crescimento estimulado pela presença de ácidos graxos, e infecções causadas por esse organismo têm sido associadas à nutrição parenteral e à administração de lipídios por via venosa. Apesar de serem esporádicas as infecções por *Malassezia* spp., surtos de fungemia têm sido percebidos entre lactentes recebendo suplementação de lipídios intravenosos. O crescimento do micro-organismo é favorecido por essa infusão rica em lipídios, e ele invade corrente sanguínea através do cateter. Um surto notável de fungemia por *M. pachydermatis* ocorreu em uma unidade pediátrica de tratamento intensivo, e foi ligado a enfermeiras que possuíam cães com otite causada por essa levedura. A cepa responsável pelo surto foi encontrada nas mãos das enfermeiras e em pelo menos um dos cães afetados.

As espécies de *Malassezia* devem ser consideradas, como possíveis patógenos, quando leveduras são vistas microscopicamente em frascos de hemocultura ou nas amostras clínicas, mas não há isolamento de micro-organismos nos meios de cultura rotineiros. Para isolar *Malassezia* spp. (especialmente *M. furfur*) em meio sólido, as placas devem ser inoculadas e então recobertas com óleo de oliva estéril. O óleo fornece os lipídios necessários, e o crescimento deverá ser observado em 3 a 5 dias.

O tratamento de fungemia causada por *Malassezia* spp. geralmente não requer a administração dos agentes antifúngicos, já que a infecção cessa assim que a infusão de lipídios é interrompida, e o acesso vascular é removido.

O gênero *Trichosporon* atualmente apresenta seis espécies de grande importância clínica: *T. asahii* e *T. mucoides* são conhecidos por causar infecções profundas e invasivas; *T. asteroides* e *T. cutaneum* causam infecção cutânea superficial; *T. ovoides* causa *piedra branca* no couro cabeludo; e *T. inkin* causa *piedra branca* nos pelos púbicos. A literatura, no entanto, é confusa, pois a maior parte das referências sobre tricosporonose sistêmica se refere à nomenclatura antiga que reconhecia o agente desta micose como *T. beigelli*. Morfologicamente, esses micro-organismos são similares e apresentam no material clínico hifas, artroconídios e células leveduriformes com brotamentos.

Trichosporon causa fungemia relacionada com cateteres em pacientes neutropênicos, mas também pode invadir a corrente sanguínea por via respiratória ou pelo trato GI. Uma intensa disseminação hematogênica pode produzir hemoculturas positivas e várias lesões cutâneas. A tricosporonose hepática crônica pode simular a candidíase hepática e é vista após a recuperação da neutropenia. O Trichosporon tem sido o agente mais comum de infecção leveduriforme não Candida em pacientes com processos malignos hematogênicos e acarreta uma taxa de mortalidade superior a 80%. A suscetibilidade à anfotericina B é variável, e este antifúngico não atua contra o Trichosporon. Falhas clínicas com anfotericina B, fluconazol e combinações dos dois têm sido registradas, e o resultado é péssimo quando não há recuperação da população de neutrófilos. As espécies de Trichosporon são resistentes às equinocandinas, mas parecem responder clinicamente ao tratamento com voriconazol.

As espécies de *Rhodotorula* são caracterizadas pela produção de pigmentos carotenoides (suas colônias variam do rosa ao vermelho) e apresentam células leveduriformes com brotamentos multilaterais, podendo ser encapsuladas ou não. *R. glutinis, R. mucilaginosa (R. rubra)* e *R. minuta* são algumas das espécies deste gênero. Essas leveduras podem ser comensais da pele, unhas e mucosas, assim como podem ser encontradas em queijos, laticínios e fontes ambientais que incluem ar, solo, cortinas de chuveiro, rejunte de banheiras e escovas de dente. As espécies de *Rhodotorula* são patógenos emergentes importantes que acometem pacientes imunossuprimidos e os

que utilizam dispositivos de longa permanência. A *Rhodotorula* tem sido envolvida em infecção e fungemia por cateter, infecção ocular, peritonite e meningite. Em infecções causadas por essa levedura, uma boa abordagem terapêutica inclui o uso de anfotericina B, que é bastante eficaz contra *Rhodotorula* quando associada à remoção do cateter. Fluocitosina também tem boa atividade, mas não deve ser o único medicamento utilizado. Fluconazol e equinocandinas não devem ser usados para tratar infecções causadas pelas espécies de *Rhodotorula*, e o papel dos novos triazóis de amplo espectro (p.ex., voriconazol e posaconazol) é incerto e depende de dados clínicos.

Entre os patógenos emergentes, a levedura oportunista, *Blastoschizomyces capitatus* (teleomorfo *D. capitatus*) é um fungo raramente citado, que causa graves infecções sistêmicas em pacientes imunossuprimidos, em especial naqueles com doenças hematológicas. Esse micro-organismo produz hifas e artroconídios, está amplamente distribuído na natureza, e pode fazer parte da microbiota cutânea normal. As infecções por *B. capitatus* são similares às causadas por *Trichosporon* em pacientes neutropênicos, com frequentes fungemia e disseminação para vários órgãos (incluindo o cérebro), e uma taxa de mortalidade entre 60% e 80%. As hemoculturas geralmente são positivas. Tal levedura, assim como o *Trichosporon*, pode produzir uma forma disseminada crônica semelhante à candidíase sistêmica crônica, na resolução da neutropenia.

A abordagem ideal para tratar infecções causadas por *B. capitatus* ainda não está definida. Alguns médicos acreditam que este fungo tenha reduzida sensibilidade à anfotericina B. A excelente atividade *in vitro* do voriconazol sugere que este possa ser um agente útil no tratamento de infecções causadas por esse micro-organismo. Rápida remoção dos cateteres, imunoterapia auxiliar e novas medicamentos antifúngicas (p.ex., voriconazol ou com altas doses de fluconazol associado à anfotericina B) são ações recomendadas para tratar essa rara, porém devastadora infecção.

Microsporídios

Fisiologia e Estrutura

Microsporídios são parasitas intracelulares obrigatórios, nucleados, unicelulares, que foram considerados organismos eucarióticos primitivos com base na presença dos ribossomas similares aos procariotas e a aparente ausência de membranas de Golgi verdadeiras, peroxissomos e mitocôndrias. Os microsporídios, todavia, foram recentemente reclassificados como fungos, com base em observações que incluem a presença de quitina na parede do esporo, identificação de um gene HSP70 mitocondrial e análises filogenéticas dos genes que codificam a β-tubulina, subunidade grande da RNA polimerase II, translocação dos fatores de alongamento EF-1 alfa e EF-2, e glutamil-sintase. Os organismos maduros agora parecem possuir organelas derivadas das mitocôndrias e, membranas similares às de Golgi foram identificadas em associação à formação de filamentos polares. Os organismos são caracterizados pela estrutura dos seus esporos, que possuem um mecanismo de extrusão tubular complexo utilizado para injetar o material infeccioso (esporoplasma) em células. Os microsporídios foram detectados em tecidos humanos e implicados como participantes na doença humana. Quatorze de espécies microsporídios identificadas patógenos humanos: Anncaliia (anteriormente Brachiola) algerae, Anncaliia (anteriormente Brachiola) connori, Anncaliia vesicularum, Encephalitozoon cuniculi, Encephalitozoon hellem, Encephalitozoon intestinalis (syn. Septata intestinalis), Enterocytozoon bienusi, Microsporidium ceylonensis, Microsporidium africanum, Nosema ocularum, Pleistophora ronneafiei, Trachipleistophora hominis, Trachipleistophora anthropophthera e Vittaforma corneae. Destes, E. bieneusi e E. intestinalis são as duas causas mais comuns de doença entérica, enquanto a maioria das espécies incriminadas na doença extraintestinal e disseminada pertence aos gêneros Encephalitozoon: E. hellem, E. cuniculi e E. intestinalis. Outras espécies — A. connori, V. corneae, T. anthropophthera, e T. hominis — foram descritas em casos raros de microsporidiose disseminada.

Patogênese

A infecção por microsporídios é iniciada pela ingestão de esporos. Após a ingestão, os esporos passam para o duodeno, onde o esporoplasma com o seu material nuclear é injetado em uma célula adjacente no intestino delgado. Uma vez dentro de uma célula hospedeira adequada, os microsporídios multiplicam-se extensivamente, quer dentro de um vacúolo parasitóforo, quer livres no citoplasma. A multiplicação intracelular inclui uma fase de repetidas divisões por divisão binária (merogonia) e uma fase que culmina na formação de esporos (esporogonia). Os parasitas espalham-se de célula para célula, causando a morte celular e inflamação local. Embora algumas espécies sejam altamente seletivas no tipo de células que invadem, coletivamente os microsporídios são capazes de infectar todos os órgãos do corpo, e infecções disseminadas têm sido descritas em indivíduos severamente imunodeprimidos. Após esporogonia, os esporos maduros contendo o esporoplasma infeccioso podem ser excretados para o meio ambiente, continuando assim o ciclo.

Epidemiologia

Os microsporídios estão distribuídos em todo o mundo e têm uma ampla gama de hospedeiros entre os animais invertebrados e vertebrados. *E. bieneusi* e *E. (S.) intestinalis* adquiriram atenção cada vez maior como causas de diarreia crônica em pacientes com AIDS. Ambos os organismos similares a *Encephalitozoon* e *Enterocytozoon* foram relatados nos tecidos de pacientes com AIDS, com hepatite e peritonite. *Trachipleistophora* e *Nosema* são conhecidos por causar miosite em pacientes imunocomprometidos. Espécies de *Nosema* causaram ceratite localizada, bem como infecção disseminadaem uma criança com imunodeficiência combinada grave. Espécies de *Microsporidium* e *E. hellem* têm causado infecção da córnea humana.

Embora o reservatório de infecção humana seja desconhecido, a transmissão é provavelmente efetuada pela ingestão de esporos que tenham sido eliminados nas fezes e urina de animais ou indivíduos infectados. Tal como acontece com a infecção criptosporídica, os indivíduos com AIDS e outras deficiências imunes celulares parecem estar em maior risco de infecção por microsporídios.

Síndromes Clínicas

Sinais e sintomas clínicos de microsporidiose são muito variáveis nos casos humanos relatados (Caso Clínico 65-3). A infecção intestinal por *E. bieneusi* em pacientes com AIDS é caracterizada por diarreia persistente e debilitante, semelhante à observada em pacientes com criptosporidiose, ciclosporíase e cistisosporíase. A apresentação clínica da infecção com outras espécies de microsporídios depende do

sistema de órgãos envolvidos e varia de dor ocular localizada e perda de visão (espécies *Microsporidium* e *Nosema*) a distúrbios neurológicos e hepatite (*E. cuniculi*), para um quadro mais generalizado de disseminação com febre, vômitos, diarreia e má absorção (espécie *Nosema*). Em um relatório de infecção disseminada com *A. connori*, o organismo foi observado envolvendo os músculos do estômago, do intestino, artérias, o diafragma, o coração e as células parenquimatosas do fígado, pulmões e glândulas suprarrenais.



Caso Clínico 65-3 Microsporidiose

J Med 351:42–47, 2004) descreveram um caso Coyle et al. (NEngl de miosite fatal causada pelo microsporídio Brachiola (Anncaliia) algerae. O paciente era uma mulher de 57 anos com artrite reumatoide e diabetes, e se apresentou com uma história de 6 semanas de aumento da fadiga, dor muscular e articular generalizada, fraqueza profunda e febre. Estava a tomar agentes imunossupressores (prednisona, metotrexato, leflunomida) para a artrite reumatoide e não tinha evidência de infecção por vírus da imunodeficiência humana (HIV). Nos 6 meses antes à admissão, começou a tomar infliximab, um anticorpo monoclonal com afinidade de ligação elevada para o fator de necrose tumoral (TNF)-α. A paciente residia em uma pequena cidade no nordeste da Pensilvânia e não tinha história recente de viagens. Não teve contato com animais. Na admissão, a sua creatina quinase sérica era elevada, e o teste para HIV foi negativo. A biópsia do músculo da coxa anterior esquerda continha microorganismos que eram consistentes com microsporídios. A aparência morfológica sugeria espécie Brachiola (Anncaliia), e a identidade foi confirmada por reação em cadeia da polimerase com o uso de primers específicos para B. (A.) algerae, um patógeno do mosquito.

A dor muscular piorou, e a paciente tornou-se cada vez mais debilitada, necessitando de ventilação mecânica após desenvolvimento de insuficiência respiratória. Apesar da administração do albendazol e itraconazol, a repetição da biópsia muscular do músculo quadríceps direito revelou microsporídios. Quatro semanas após a admissão, a paciente morreu de um infarto cerebral maciço. A biópsia muscular pós-morte revelou necrose e organismos persistentes.

B.~(A.)~algerae é um agente patógeno microsporídio bem conhecido dos mosquitos, mas não tinha sido relatado anteriormente como causador de miosite em seres humanos. O presente relato de caso ilustra que patógenos de insetos, tais como B.~(A.)~algerae, são capazes de causar doença disseminada em seres humanos. A terapia com anti-TNF- α (infliximab) pode ter predisposto a paciente para a infecção com esse agente.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da infecção por microsporídios pode ser feito por detecção dos organismos em material de biópsia e por meio de exame ao microscópio óptico de LCR e urina. Os esporos, medindo entre 1,0 e 2,0 µm, podem ser visualizados por técnicas de Gram (Grampositivos), acidorresistente, ácido periódico de Schiff, imunoquímica, tricrômio modificado e coloração de Giemsa. Uma técnica de coloração à base de cromótropo, para a detecção por microscopia óptica de esporos de *E. bieneusi* e *E. (S.) intestinalis* nas fezes e aspirados duodenais, também tem sido descrita. A microscopia eletrônica é considerada o padrão ouro para a confirmação diagnóstica de microsporidiose e para a identificação ao nível do gênero e espécie; no entanto, a sua sensibilidade é desconhecida. Técnicas de diagnóstico adicionais, incluindo testes de PCR, cultura e sorológicos, estão sob investigação. Essas técnicas ainda não são consideradas fiáveis o suficiente para o diagnóstico de rotina. Métodos moleculares também podem ser usados para identificar o organismo infectante ao gênero e espécie.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da infecção por microsporídios, na maioria das vezes, inclui a administração oral com o fármaco albendazol. Estudos clínicos demonstraram a eficácia do albendazol contra espécies do gênero *Encephalitazoon* em pacientes infectados com HIV, para os quais é o tratamento de escolha para a microsporidiose intestinal, ocular, e disseminada, embora seja apenas parcialmente ativo contra *E. bieneusi*. A fumagilina tem sido utilizada com sucesso contra espécies do gênero *Encephalitozoon* e contra *V. corneae*, *in vitro* e em humanos, para o tratamento da microsporidiose intestinal por *E. bieneusi*. A nitazoxanida tem atividade contra *E. intestinalis* e *V. corneae* e tem sido eficaz no tratamento da infecção causada por *E. bieneusi* em pacientes com AIDS. Tal como acontece com a maioria das infecções oportunistas, a reconstituição imunológica associada à terapia antirretroviral desempenha um papel fundamental na erradicação de microsporídios em pacientes infectados com HIV, e a terapia antirretroviral efetiva é suscetível de reduzir a incidência de infecções causadas por microsporídios no futuro.

Tal como com o *Cryptosporidium*, a prevenção da infecção por microsporídios é difícil. Os mesmos métodos de melhoria da higiene pessoal e saneamento utilizados para protozoários intestinais devem ser mantidos com essa doença.

Aspergilose

A aspergilose (Caso Clínico 65-4) comporta um amplo espectro de doenças causadas por membros do gênero *Aspergillus* (Quadro 65-2). A existência de *Aspergillus* no ambiente pode causar reações alérgicas em hospedeiros hipersensíveis ou uma destrutiva doença pulmonar invasiva e formas disseminadas em indivíduos altamente imunossuprimidos. Apesar de terem sido documentadas por volta de 19 espécies de *Aspergillus* como agentes de micose humana, a maioria das infecções é causada por *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. terreus*. Estudos moleculares taxonômicos mostraram que todas as espécies mencionadas anteriormente são na verdade espécies complexas, que abrigam espécies morfologicamente indistinguíveis, algumas das quais podem apresentar importantes informações sobre resistência antifúngica e características patogênicas.



Caso Clínico 65-4 Aspergilose Invasiva

Guha et al. (*Infect Med* 24[Suppl 8]:8–11, 2007) descrevem um caso de aspergilose invasiva em um receptor de transplante renal. A paciente era uma mulher de 34 anos que apresentava, há 2 dias, fraqueza, tontura, dor na panturrilha esquerda e fezes pretas. Não apresentava dores no tórax, tosse, ou falta de ar. Seu histórico médico passado indicava diabetes que levou à insuficiência renal, o

que acarretou a realização de transplante renal de cadáver em 2002. Três semanas antes da apresentação desse quadro, desenvolveu rejeição aguda ao transplante. Ela foi colocada sob terapia imunossupressora com alentuzumabe, tacrolimus, sirolimus e prednisona. Quando foi internada, apresentava taquicardia, hipotensão e febre. O exame físico mostrou cordão venoso palpável na fossa poplítea. Uma primeira radiografia de tórax não mostrou anormalidades. Estudos laboratoriais identificaram anemia e azotemia. A contagem de leucócitos estava em 4.800/µL com 80% de neutrófilos. A paciente recebeu quatro unidades de eritrócitos, e um tratamento empírico com gatifloxacino foi iniciado. As hemoculturas foram positivas para Escherichia coli sensível ao gatifloxacino. No sexto dia de internação, desenvolveu erupção vesicular na região glútea e na panturrilha esquerda, as culturas foram positivas para herpes simples, e ela foi medicada com aciclovir. A condição clínica dela se estabilizou, exceto por sua função renal, sendo iniciada hemodiálise intermitente no 8° dia de internação. No 12° dia, a paciente mostrou diminuição da resposta, perda de consciência, taquipneia e foi submetida à ventilação mecânica. Nova radiografia de tórax mostrou nódulos pulmonares bilaterais e difusos. A cultura do lavado broncoalveolar (LBA) foi positiva para Aspergillus spp., e corpos de inclusão viral sugestivos de citomegalovírus foram observados. A imunidade melhorou e foi iniciado tratamento com anfotericina B lipossomal. Ela sofreu um infarto agudo do miocárdio e foi ao coma. Vários infartos agudos no lobo frontal e no cerebelo foram observados na ressonância magnética do cérebro. A condição da paciente continuou a se deteriorar, e muitos nódulos cutâneos se desenvolveram nos braços e no tronco. Na cultura de biópsia das amostras de pele foi, isolado Aspergillus flavus. A paciente faleceu no 23º dia. Na necropsia, A. flavus foi identificado em vários órgãos, incluindo coração, pulmões, glândulas adrenais, tireoide, rim e fígado.

Esse caso serve como um exemplo extremo de aspergilose disseminada em um paciente imunossuprimido.



Quadro 65-2 Espectro das Doenças Causadas por Espécies de Aspergillus

Reações Alérgicas

Cavidade nasal Seios paranasais Trato respiratório inferior

Colonização

Seios paranasais obstruídos Brônquios Cavidades pulmonares pré-formadas

Infecções Cutâneas Superficiais

Lesões Locais por cateteres

Infecções Invasivas Limitadas

Pacientes moderadamente imunossuprimidos Brônquios Parênquima pulmonar

Infecção Pulmonar Francamente Invasiva

Pacientes gravemente imunossuprimidos Vasculatura pulmonar e parênquima Disseminação sistêmica Morte

Morfologia

As espécies de *Aspergillus* crescem em cultura como fungos filamentosos hialinos. Grosseiramente, as colônias de *Aspergillus* podem ser pretas, marrons, verdes, amarelas, brancas ou de outras cores, dependendo da espécie e das condições de crescimento. A aparência da colônia pode fornecer uma sugestão inicial quanto às espécies de *Aspergillus*, mas a identificação definitiva exige exame microscópico das hifas e das estruturas da cabeça conidial.

Aspergillus apresenta hifas ramificadas e septadas que produzem cabeças conidiais quando expostas ao ar em cultura e nos tecidos. Seu conidióforo consiste em uma hifa com uma vesícula terminal, sobre a qual nascem uma ou duas camadas de fiálides, ou esterigmas (Cap. 57, Fig. 57-3B). As fiálides alongadas, por sua vez, produzem colunas de conídios esféricos, os quais são os propágulos infecciosos que se desenvolvem na fase filamentosa do fungo. A identificação de espécies individuais de Aspergillus depende, em parte, das diferenças em suas cabeças conidiais, incluindo a disposição e a morfologia dos conídios (Figs. 65-12 e 65-13). Muitas vezes, pode ser necessário o uso de métodos moleculares para identificar as espécies abrigadas dentro de um complexo de espécies.

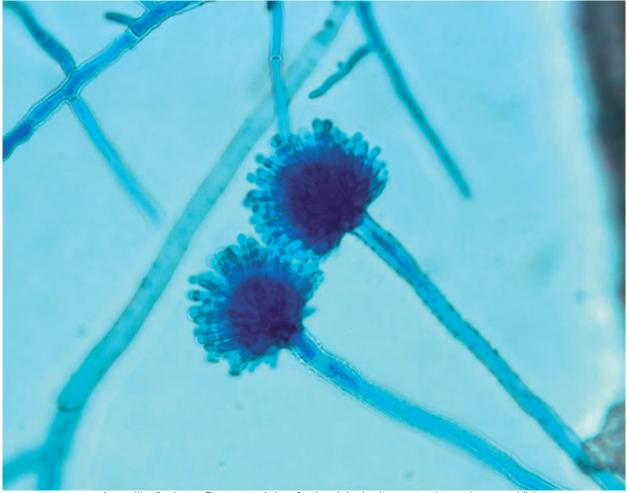


FIGURA 65-12 Aspergillus fumigatus. Preparação de lactofenol azul de algodão mostrando as cabeças conidiais.

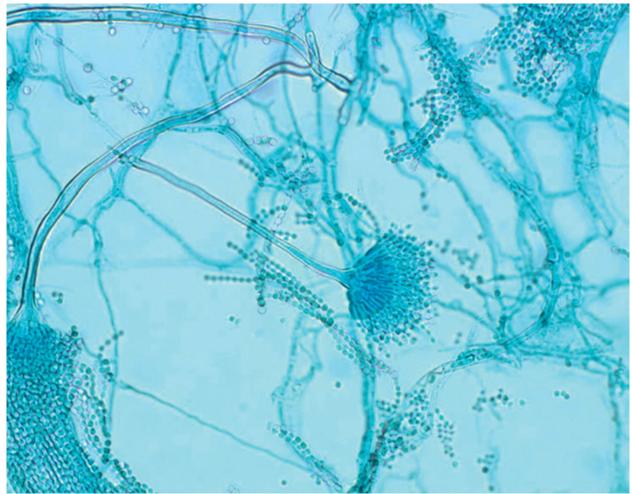


FIGURA 65-13 Aspergillus terreus. Preparação de lactofenol azul de algodão mostrando a cabeça conidial.

Nos tecidos, as hifas de *Aspergillus* spp. se coram fracamente com H&E, mas são visualizadas com as colorações PAS, GMS e de Gridley (Fig. 65-14). Esses filamentos são homogêneos, com largura uniforme (3 a 6 μm), contornos paralelos e septos regulares, ramificando-se progressivamente, num padrão semelhante ao das árvores (Fig. 65-14). Os ramos são dicotômicos e geralmente se orientam em ângulo agudo (≈ 45 graus). As hifas podem ser vistas no interior dos vasos sanguíneos (angioinvasão), causando trombose. As cabeças conidiais raras vezes são vistas em tecidos, mas podem aparecer no interior de uma cavidade (Fig. 65-15). Uma importante espécie, *A. terreus*, pode ser identificada em tecido por seus aleurioconídios, esféricos ou ovais, que se desenvolvem a partir das paredes do micélio (Fig. 65-16). Por outro lado, nos tecidos, as hifas das espécies patogênicas de *Aspergillus* são morfologicamente indistinguíveis entre si.

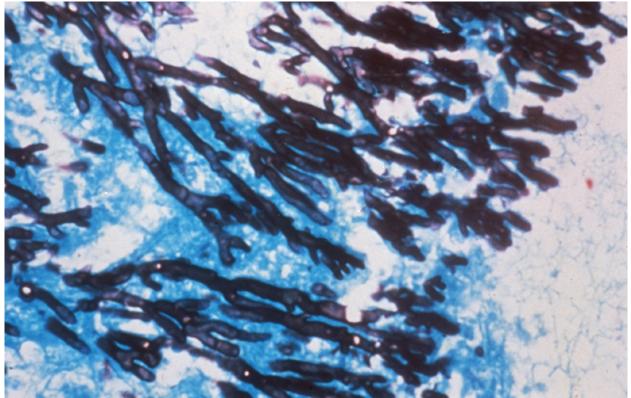


FIGURA 65-14 Tecido com *Aspergillus* mostrando as hifas septadas com ramificação em ângulo agudo (GMS, ampliado 1.000 vezes).

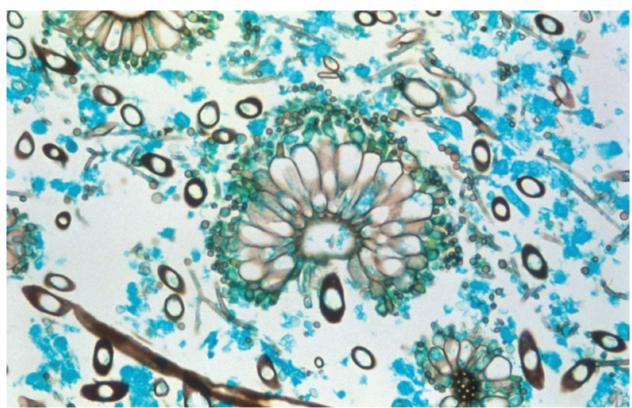


FIGURA 65-15 Aspergillus niger em lesão pulmonar cavitária mostrando hifas e cabeças conidiais (GMS, ampliado 1.000 vezes).

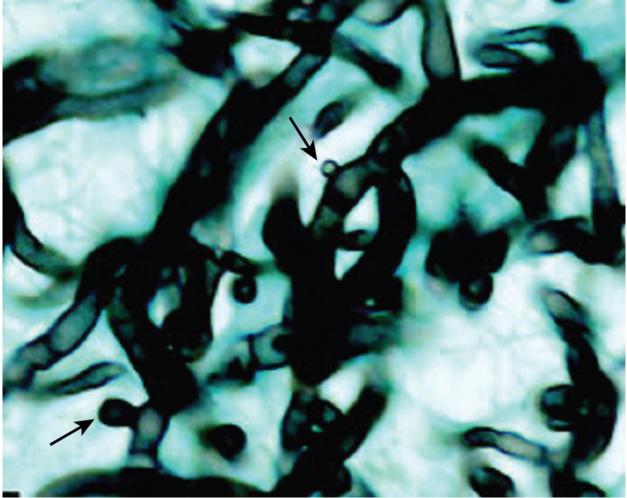


FIGURA 65-16 Aspergillus terreus em tecido. As setas apontam para os aleurioconídios (GMS, ampliado 1.000 vezes). (De Walsh TJ, Petraitis V, Petraitiene R, et al: Experimental pulmonary aspergillosis due to Aspergillus terreus: pathogenesis and treatment of an emerging fungal pathogen resistant to amphotericin B, J Infect Dis 188:305–319, 2003.)

Epidemiologia

Aspergillus spp. são comuns ao redor do mundo. Seus conídios são ubíquos no ar, no solo e em material em decomposição. No ambiente hospitalar, podem ser encontrados no ar, nos chuveiros, tanques de água e plantas em vasos. Como resultado, os conídios estão sendo constantemente inalados. O tipo de reação do hospedeiro, os achados patológicos associados e o curso da infecção dependem mais dos fatores relacionados com o hospedeiro que da virulência das *Aspergillus* spp. O trato respiratório é a mais frequente e mais importante porta de entrada.

Síndromes Clínicas

As manifestações alérgicas da aspergilose constituem um espectro de apresentações baseadas no grau de hipersensibilidade aos antígenos do *Aspergillus*. Na forma broncopulmonar, podem-se observar asma, infiltrados pulmonares, eosinofilia periférica, níveis elevados de imunoglobulina (Ig)E sérica e evidência de hipersensibilidade aos antígenos de *Aspergillus* (teste cutâneo). A sinusite alérgica mostra evidências laboratoriais de hipersensibilidade associada a sintomas respiratórios de obstrução nasal, cefaleia e dores faciais.

A colonização dos seios paranasais e das vias aéreas inferiores pode resultar em aspergilose obstrutiva brônquica levando à formação de aspergiloma ("bola fúngica"). A aspergilose obstrutiva brônquica ocorre quando existem doenças pulmonares como fibrose cística, bronquite crônica ou bronquiectasia; massa de hifas e mucina acomoda-se nos brônquios obstruindo-os e tomando sua forma. Os sintomas são os mesmos da doença subjacente, sem lesão nos tecidos e sem necessidade de tratamento. Um aspergiloma pode se formar nos seios paranasais ou em cavidades existentes nos pulmões, resultantes de uma antiga tuberculose ou outra doença pulmonar crônica. Aspergilomas podem ser vistos por meio de radiografias, mas geralmente são assintomáticos. O tratamento não é indicado, a menos que haja hemorragia pulmonar. Caso isso ocorra, o que pode ser grave e potencialmente fatal, recomenda-se a remoção cirúrgica da cavidade e da bola fúngica. Quando o aspergiloma ocorre nos seios paranasais, deve ser realizado um desbridamento radical na região para aliviar qualquer sintoma ou hemorragia causada pela bola fúngica nos seios.

A aspergilose invasiva apresenta inúmeras formas; pode ser uma doença invasiva superficial, que ocorre em casos de imunossupressão (p.ex., terapia com doses baixas de esteroides, doença do colágeno vascular ou diabetes), ou pode ser uma forma altamente destrutiva de aspergilose invasiva, localizada nos pulmões ou disseminada. As formas invasivas mais limitadas geralmente incluem a aspergilose brônquica pseudomembranosa necrosante e a aspergilose pulmonar crônica necrosante. A aspergilose brônquica pode causar sibilos, dispneia e hemoptise. A maioria dos pacientes com aspergilose pulmonar necrosante crônica apresenta também doença pulmonar estrutural, que pode ser tratada com baixas doses de corticosteroides. Essa é uma infecção crônica que pode ser localmente destrutiva, com o desenvolvimento de infiltrados e "bolas fúngicas" visíveis nas radiografias, mas que não é associada a

invasão vascular ou disseminação. A ressecção cirúrgica das áreas afetadas e administração de antifúngicos são eficazes no tratamento dessa doença.

A aspergilose pulmonar invasiva e a aspergilose disseminada são infecções observadas em pacientes altamente neutropênicos e imunossuprimidos. Os principais fatores predisponentes para essa complicação infecciosa são contagem de neutrófilos abaixo de 500/mm³, quimioterapia citotóxica e corticoterapia. Os pacientes apresentam febre e infiltrados pulmonares, acompanhados, com frequência, de dor torácica pleurítica e hemoptise. O diagnóstico definitivo é frequentemente retardado, pois as culturas de sangue e de escarro apresentam em geral resultados negativos. A mortalidade nesses casos, apesar da terapia antifúngica específica, é bem alta, e muitas vezes é acima de 70% (Tabela 65-5). A disseminação hematogênica da infecção para os pontos extrapulmonares é comum devido à natureza angioinvasiva do fungo. Os locais mais comumente envolvidos são cérebro, coração, rins, trato gastrointestinal, fígado e baço.

Diagnóstico Laboratorial

Assim como em outras micoses por fungos ubíquos, o diagnóstico da aspergilose exige cuidado durante a avaliação do isolamento de uma espécie de *Aspergillus* de amostras clínicas. Quando o isolamento de *Aspergillus* spp. é obtido a partir de tecidos cirurgicamente removidos ou de locais estéreis, acompanhado de histopatologia positiva (hifas hialinas septadas em ramificação ditocômica), sempre é considerado significativo; entretanto, o isolamento feito a partir de locais normalmente contaminados (p.ex., trato respiratório) exige a realização de exames minuciosos.

A maior parte dos agentes etiológicos da aspergilose cresce rapidamente nos meios micológicos de rotina, sem ciclo-heximida. A identificação em nível de espécie da maioria dos patógenos humanos pode ser feita pela observação das características macroscópicas e microscópicas da cultura em ágar-batata. A micromorfologia (conidióforos, vesículas, métulas, fiálides e conídios) é mais bem observada nos cultivos em lâminas, o que é necessário para a identificação das espécies.

A aspergilose invasiva causada por *A. fumigatus* e por outras espécies raramente é identificada pelo isolamento em culturas de sangue. De fato, a maioria dos isolados de *Aspergillus* spp. obtidos de amostras da corrente sanguínea representavam uma pseudofungemia ou decorreram de eventos terminais na autópsia. Deve-se destacar que *A. terreus*, dentre todas as espécies de *Aspergillus*, demonstrou causar fungemia verdadeira. Assim como outros fungos filamentosos angioinvasivos (p.ex., *Fusarium*, *Scedosporium* spp.), *A. terreus* é capaz de esporulação adventícia, na qual esporos semelhantes a blastoconídios (aleurioconídios) são formados nos tecidos, havendo maior probabilidade de serem detectados nas hemoculturas (Fig. 65-16). A observação desses aleurioconídios em exame microscópico de tecidos, de aspirados com agulha fina ou de lavado brônquico pode permitir uma identificação rápida e presumível de *A. terreus*.

O rápido diagnóstico da aspergilose invasiva tem progredido graças ao desenvolvimento dos imunoensaios para a detecção do antígeno galactomanana de Aspergillus presente no soro. Tal teste emprega um formato de ensaio imunoenzimático e está disponível como um kit comercial ou em laboratórios de referência. Ao que tudo indica, o teste é razoavelmente específico, mas apresenta uma sensibilidade variável. É mais utilizado em amostras seriadas de pacientes de alto risco (sobretudo os neutropênicos e os submetidos a BTM), que são aqueles em que há indicação precoce para iniciar a terapia antifúngica, empírica ou opcional, e prosseguir insistindo na obtenção de um diagnóstico definitivo. O teste β -d-glucana tem sido aplicado para o diagnóstico da aspergilose invasiva, mas sofre de falta de especificidade. Em contraste, os ensaios baseados em PCR têm provado ser tanto sensíveis como específicos para o diagnóstico de aspergilose invasiva, e esforços para padronizar este método estão em curso.

Tratamento e Prevenção

A prevenção da aspergilose em pacientes de alto risco é fundamental. Neutropênicos e outros pacientes de alto risco são geralmente mantidos em complexos nos quais o ar é filtrado para minimizar a exposição aos conídios de *Aspergillus*.

A terapia antifúngica específica para aspergilose quase sempre envolve a administração de voriconazol ou de formulação lipídica de anfotericina B. É importante saber que *A. terreus* é considerado resistente a este último, e deve ser tratado com um agente alternativo como o voriconazol. A introdução deste proporciona uma opção de tratamento mais eficaz e menos tóxica que a anfotericina B (Cap. 61). Recentemente, a terapia de combinação com voriconazol mais anidulafungina demonstrou ter atividade promissora quando comparada com a utilização de qualquer um dos fármacos isolados. Simultaneamente, devem ser realizados esforços para a diminuição da imunossupressão e/ou reconstituição das defesas imunológicas do hospedeiro, o que é muito importante no tratamento da aspergilose. Dessa maneira, recomenda-se a ressecção cirúrgica das áreas acometidas, se for possível. A resistência aos triazóis ativos contra fungos filamentosos (isavuconazol, itraconazol, posaconazol, voriconazol) é incomum, mas tem sido relatada em vários locais em todo o mundo. Uma ligação potencial com a utilização de fungicidas de azol na agricultura foi avaliada na Holanda.

Mucormicoses

As mucormicoses referem-se a doenças causadas por fungos do sub-phylum Mucoromicotina e Entomoftoromicotina. Os principais patógenos humanos entre os Mucormicetos são abarcados em duas ordens: Mucorales e Entomoftorales. A ordem Entomophtorales apresenta dois gêneros patogênicos: *Conidiobolus* e *Basidiobolus*. Esses agentes geralmente produzem uma infecção crônica e granulomatosa dos tecidos subcutâneos e são discutidos no Capítulo 63.

Na ordem Mucorales estão incluídos os gêneros patogênicos *Rhizopus, Mucor, Lichtheimia* (anteriormente *Abisidia*), *Rhizomucor, Saksenaea, Cunninghamella, Syncephalastrum* e *Apophysomyces*. As infecções causadas pelos mucormicetos (fungos da ordem Mucorales) são raras, ocorrendo a uma taxa anual de 1,7 infecção por milhão de pessoas nos EUA. Infelizmente, quando ocorrem, as infecções causadas por tais agentes costumam ser agudas e progridem rapidamente, com taxas de mortalidade entre 70% e 100%.

Morfologia

Macroscopicamente, os Mucorales patogênicos crescem rapidamente, produzindo colônias algodonosas de coloração que varia do cinza ao marrom em 12 a 18 horas. A identificação de gênero e espécie é baseada em sua micromorfologia. Microscopicamente, os mucormicetos são fungos filamentosos hialinos, com hifas cenocíticas largas e esparsamente separadas. Os esporos assexuais da ordem Mucorales são produzidos no interior de um esporângio, e são denominados **esporangiósporos**. Os esporângios nascem na ponta dos

esporangióforos (aparelho reprodutor), os quais são hastes terminadas por uma dilatação semelhante a um bulbo chamada **columela** (Fig. 65-17; também Cap. 57, Fig. 57-3A). A presença de estruturas semelhantes a raízes chamadas **rizoides** é útil na identificação de determinado gênero dentro da ordem Mucorales. Assim como nos *Aspergillus*, a identificação dos Mucorales é melhor quando realizada por métodos moleculares.



FIGURA 65-17 Rhizopus sp. mostrando esporângio e rizoides.

Nos tecidos, os mucormicetos (ordem Mucorales) apresentam hifas hialinas (não pigmentadas), semelhantes a faixas, asseptadas ou esparsamente septadas (Fig. 65-18). Em contraste com *Aspergillus* spp. e outros fungos hialinos, as hifas frequentemente têm diâmetro superior a 10 µm, são irregularmente contornadas e pleomórficas, dobrando-se e torcendo-se sobre si mesmas com frequência. Seu padrão de ramificação é casual e não progressivo, com ramos dispostos tipicamente em ângulos retos. As paredes das hifas são finas, coram-se fracamente com GMS e outras colorações fúngicas, e são com frequência mais facilmente detectáveis com H&E (Fig. 65-18). Os mucormicetos são tipicamente angioinvasivos.

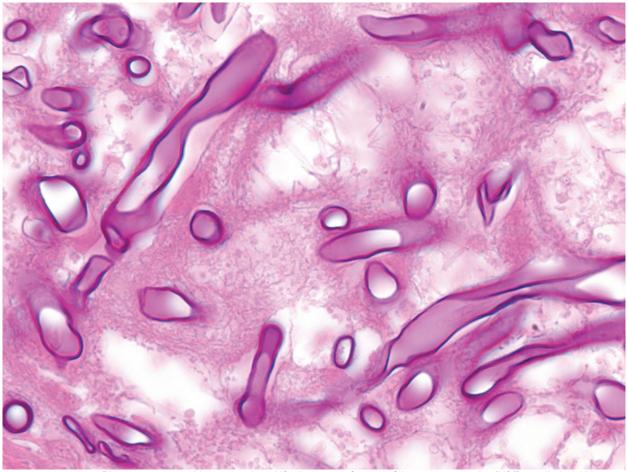


FIGURA 65-18 Rhizopus sp. em tecido mostrando as hifas largas, em forma de faixas e não septadas (H&E, ampliado 1.000 vezes).

Epidemiologia

A mucormicose é uma doença esporádica que ocorre em todo o mundo e tem o *Rhizopus arrhizus* como principal agente; entretanto, *Rhizopus, Rhizomucor, Lichtheimia* e *Cunninghamella* são espécies também conhecidas por causar doença invasiva em indivíduos hospitalizados. Estes fungos são ubíquos no solo e na vegetação em decomposição, e a infecção pode ser contraída por inalação, ingestão ou por contaminação de ferimentos com os esporangiósporos do ambiente. Assim como ocorre com *Aspergillus* spp., a disseminação nosocomial dos mucormicetos pode acontecer por meio de sistemas de ar-condicionado, particularmente durante a construção. Os surtos focais de mucormicose têm também sido associados ao uso de bandagens adesivas ou esparadrapos contaminados em curativos cirúrgicos, resultando em mucormicose cutânea primária.

A mucormicose invasiva ocorre em paciente imunossuprimido e é clinicamente semelhante à aspergilose. Estima-se que os mucormicetos possam causar infecção em 1% a 9% dos pacientes com transplantes de órgãos sólidos, sobretudo aqueles com diabetes melito. Os fatores de risco incluem terapia com corticosteroides e deferoxamina, cetoacidose diabética, insuficiência renal, processos malignos hematogênicos, mielossupressão e exposição à atividade de construção em hospitais. A mucormicose foi diagnosticada após BMT em pacientes sob terapia profilática antifúngica com voriconazol, um agente que não é ativo contra os mucormicetos.

Síndromes Clínicas

Há várias formas clínicas de mucormicose causadas pelos membros da ordem Mucorales. A mucormicose rinocerebral é uma infecção invasiva aguda que atinge a cavidade nasal, seios paranasais, a órbita e as estruturas faciais, estendendo-se para o SNC e afetando as meninges e o cérebro. A maior parte dessas infecções ocorre em pacientes com acidose metabólica, particularmente cetoacidose diabética, e naqueles distúrbios sanguíneos malignos.

A mucormicose pulmonar ocorre como infecção primária em pacientes neutropênicos e pode ser diagnosticada erroneamente como aspergilose invasiva. As lesões pulmonares provocam infartos como resultado da invasão pelas hifas e subsequente trombose de grandes vasos pulmonares. Radiografias de tórax mostram uma broncopneumonia que progride rapidamente, consolidação segmentada ou lobar e sinais de cavitação. Pode ocorrer formação de "bola fúngica" simulando um aspergiloma. Como resultado da invasão vascular pelo fungo, pode ocorrer hemorragia pulmonar seguida de hemoptise fatal.

A natureza angioinvasiva dos mucormicetos frequentemente leva a uma infecção disseminada, com infarto dos tecidos de vários órgãos. O quadro clínico pode demonstrar envolvimento neurológico, pulmonar ou do trato gastrointestinal, e neste último caso geralmente resulta em intensa hemorragia ou perfuração.

A mucormicose cutânea pode ser um sinal de disseminação hematogênica. As lesões tendem a ser nodulares com centro necrótico. A mucormicose cutânea primária pode ocorrer pela inoculação após lesão traumática, pela contaminação de curativos cirúrgicos ou pela colonização de queimaduras. A infecção pode ser superficial ou estender-se rapidamente para o tecido subcutâneo. O resultado da devastação causada por tornados nos EUA, em 2011, foi a ocorrência de diversos casos de mucormicose extremamente invasiva em indivíduos não imunossuprimidos após inoculação cutânea pelos estilhaços lançados no ar.

Diagnóstico Laboratorial

O prognóstico da mucormicose é extremamente grave e, por esse motivo, todos os esforços devem ser realizados para a obtenção de tecido para exame microscópico direto, estudo histológico e cultura. Sendo os mucormicetos um grupo de fungos extremamente difundidos nos ambientes, a demonstração dos elementos fúngicos característicos nos tecidos assume maior importância que o simples isolamento em cultura.

Constituem amostras clínicas apropriadas o raspado de mucosa nasal, aspirado do conteúdo dos seios nasais, lavado broncoalveolar e biópsia de todo tipo de tecido infectado necrótico. O exame direto do material clarificado por KOH (hidróxido de potássio) com calcoflúor branco pode revelar hifas largas e asseptadas. Cortes histológicos corados com H&E ou PAS são ideais (Fig. 65-18) para observação de hifas amplas, irregularmente ramificadas, retorcidas e com poucos septos.

O tecido para cultura deve ser fragmentado, não homogeneizado e inoculado em meio micológico padrão sem ciclo-heximida. Apesar da observação microscópica das hifas nos tecidos, é comum o resultado negativo dos cultivos, o que ocorre em cerca de 40% das culturas. O diagnóstico da mucormicose não pode ser estabelecido ou rejeitado com base apenas na cultura, pois depende de um painel de evidências reunidas pelo clínico e pelo microbiologista. Infelizmente, ainda não estão amplamente disponíveis testes sorológicos ou moleculares específicos para mucormicetos (Cap. 60).

Tratamento

A anfotericina B continua sendo a terapia de escolha para mucormicose, sendo frequentemente complementada por desbridamento cirúrgico e recuperação do sistema imunológico. A maioria dos mucormicetos parece muito sensível à anfotericina B e geralmente não responde ao uso de azóis ou equinocandinas (Cap. 61). Entre os triazóis de espectro alargado, no entanto, o posaconazol e isavuconazol destacam-se por parecerem ter atividade útil contra muitos dos Mucormicetos. Ambos triazóis têm documentada eficácia em modelos murinos de mucormicose e em experiências limitadas no tratamento de infecções em seres humanos. Por outro lado, o voriconazol é inativo contra esses agentes, e casos de mucormicose invasiva foram relatados em pacientes de BMT recebendo profilaxia antifúngica com esse medicamento.

Micoses Causadas por Outros Fungos Hialinos

A lista de fungos hialinos, também conhecidos como **hialo-hifomicetos**, é bem longa, e uma discussão sobre todos eles está muito além do escopo deste capítulo (Quadro 65-1). Os agentes taxonomicamente diversos da hialo-hifomicose (infecção causada por fungos filamentosos não pigmentados) compartilham várias características: apresentam reduzida sensibilidade a um número de agentes antifúngicos, e nos tecidos aparecem como fungos filamentosos hialinos (não pigmentados), ramificados, septados e indistinguíveis do *Aspergillus*. Por isso, a cultura é necessária para identificar esses agentes e pode ser crucial para determinar a terapia mais apropriada.

Embora as infecções causadas pela maioria desses fungos sejam relativamente incomuns, sua incidência parece estar aumentando. Acredita-se que, na maioria das vezes, as infecções disseminadas sejam adquiridas por inalação de esporos ou a partir de um processo cutâneo, inicialmente localizado, que se agrava e evolui. Neste capítulo, a discussão dos gêneros específicos é limitada aos fungos selecionados por importância

clínica: Fusarium spp., Scedosporium spp., Sarocladium spp., Paecilomyces spp., Purpureocillium spp., Trichoderma spp. e Scopulariopsis spp. Tais organismos tendem a causar infecções em pacientes neutropênicos, são frequentemente disseminados na natureza e quase sempre fatais quando não há recuperação imunológica. Vários desses fungos são capazes de produzir conídios na adventícia (esporulação em tecido) com disseminação hematogênica concomitante, culturas de sangue positivas e várias lesões cutâneas.

As espécies de Fusarium têm sido cada vez mais reconhecidas como causadoras de infecção disseminada em pacientes imunossuprimidos. Fusarium também é um dos principais agentes da ceratite fúngica, especialmente entre usuários de lentes de contato. As espécies mais comumente isoladas de amostras clínicas incluem Fusarium moniliforme, F. solani e F. oxysporum. A marca registrada da fusariose disseminada é o aparecimento de vários nódulos cutâneos purpúreos com centro necrosado (Caso Clínico 65-5). A biópsia desses nódulos geralmente revela hifas septadas hialinas e ramificadas, invadindo os vasos sanguíneos da derme (Fig. 65-19). Culturas realizadas a partir de biópsia e de sangue são úteis para estabelecer o diagnóstico da infecção por Fusarium. Ainda que na aspergilose invasiva as culturas de sangue sejam praticamente negativas, em torno de 75% dos pacientes com fusariose terão culturas de sangue positivas. Em cultivo, as colônias de Fusarium spp. crescem rapidamente, são algodonosas a cotonosas, planas ou espraiadas. Suas cores podem ser azul-esverdeada, bege, salmão, lavanda, vermelha, violeta e roxa. Microscopicamente, Fusarium spp. são caracterizadas pela produção de macronídios e microconídios. Microconídios têm uma ou duas células e são ovoides ou cilíndricos, podendo formar cadeias curtas ou bolas mucosas, que são aglomerados de microconídios imersos em substância mucoide. Os macroconídios são fusiformes ou falciformes e multicelulares (Figs. 65-19 e 65-20). As espécies de Fusarium frequentemente se mostram resistentes à anfotericina B in vitro, sendo comuns infecções invasivas em pacientes tratados com esse agente. Voriconazol e posaconazol têm sido ministrados com sucesso em alguns pacientes com fusariose refratária à anfotericina B. Para o tratamento da fusariose, recomenda-se o uso de formulação lipídica de anfotericina B, voriconazol ou posaconazol, e a realização de grandes esforços na recuperação imunológica do paciente.



Caso Clínico 65-5 Fusariose

Badley et al. (www.FronlineFungus.org) descrevem o caso de um homem de 38 anos, submetido à quimioterapia para leucemia mieloide aguda diagnosticada recentemente, que desenvolveu neutropenia e febre. Ele foi tratado com agentes antibacterianos de amplo espectro, mas permaneceu febril após 96 horas. Foi colocado um cateter na jugular. Culturas de sangue e urina não mostraram crescimento. Para combater uma possível infecção fúngica, voriconazol foi adicionado à terapia. Após 1 semana, o paciente ainda se apresentava febril e neutropênico, e a terapia antifúngica foi mudada para caspofungina. Quatro dias depois, o paciente desenvolveu ligeira erupção dolorosa nas extremidades superiores; as lesões eram placas eritematopapulares com seu centro se tornando necrótico. Culturas de sangue e biópsia cutânea foram enviadas ao laboratório para análise; o resultado da hemocultura foi positivo para "levedura", com base na presença de células com brotamentos e pseudo-hifas. A biópsia da pele

mostrou um "fungo filamentoso" compatível com *Aspergillus*. Porém, o teste para galactomanana no soro foi negativo. Em todas as culturas cresceu *Fusarium solani*. Com isso, o tratamento com caspofungina foi descontinuado, e trocado por anfotericina B lipossomal associada ao voriconazol. Mesmo com a terapia antifúngica, o número das lesões aumentou pelas 2 semanas seguintes e se espalharam pelas suas extremidades, tronco e face. A neurotropenia e a febre persistiram, levando o paciente a óbito aproximadamente 3 semanas após o diagnóstico inicial.

Lesões de pele e culturas de sangue positivas são achados típicos na fusariose. Apesar do resultado positivo da hemocultura para "levedura", um exame minucioso revelou microconídios e hifas de *Fusarium*. Dessa maneira, a observação de hifas septadas na biópsia de pele poderia representar um número diferente de fungos filamentosos hialinos, incluindo *Fusarium*.



FIGURA 65-19 Fusarium sp. em cultura mostrando característicos macroconídios "em forma de foice". (De Long SS, Pickering LK, Prober CG: Principles and practice of pediatric infectious diseases, Philadelphia, 2012, Saunders, Fig. 245-2.)



FIGURA 65-20 Fusarium oxysporum. Preparação com lactofenol azul de algodão.

No gênero *Scedosporium, S. apiospermum* (teleomorfo *Pseudallescheria apiosperma*) e *S. prolificans* representam dois importantes patógenos oportunistas resistentes aos antifúngicos. *S. apiospermum* pode ser facilmente isolado do solo e é um agente ocasional de micetoma em todo o mundo; no entanto, é também causador de grave infecção, localizada e disseminada, em pacientes imunossuprimidos. Além da doença de ampla disseminação, *S. apiospermum* tem sido relatado como causador de úlceras de córnea, endoftalmite, sinusite, pneumonia, endocardite, meningite, artrite e osteomielite. Ao exame histopatológico, *S. apiospermum* é indistinguível de *Aspergillus* spp. e de outros agentes de hialo-hifomicoses. Essa distinção é clinicamente importante, pois *S. apiospermum* é resistente à anfotericina B e suscetível ao voriconazol e ao posaconazol. Em cultura, as colônias são lanosas a algodonosas, inicialmente brancas, tornam-se marrom-esfumaçadas a verde. Em escala microscópica, os conídios são unicelulares, alongados e castanhos, podendo estar isolados ou agrupados em bolas em conidióforos longos ou curtos (Fig. 65-21).

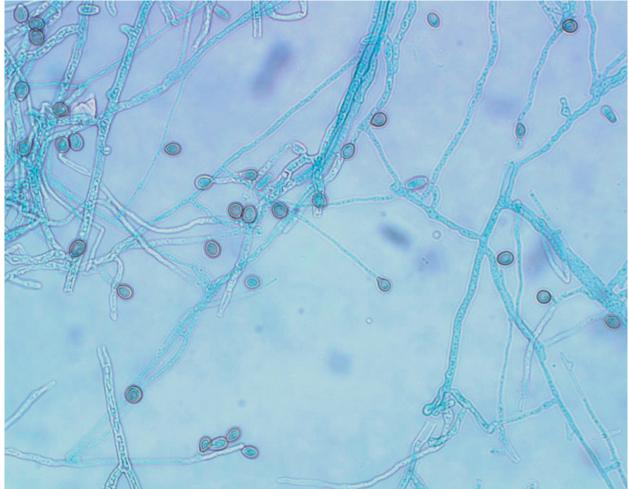


FIGURA 65-21 Scedosporium apiospermum (Pseudallescheria apiosperma). Preparação com lactofenol azul de algodão mostrando conídios e hifas septadas.

S. prolificans (anteriormente S. inflatum) é um agente emergente de hialo-hifomicose, de potencial virulento e altamente agressivo. Embora seja bem menos importante que Fusarium ou S. apiospermum, as infecções causadas por esse fungo estão associadas a trauma dos tecidos moles e são caracterizadas por ampla invasão local, necrose e osteomielite. S. prolificans se assemelha ao S. apiospermum na morfologia macroscópica e microscópica. S. prolificans forma agregados úmidos de aneloconídios no ápice de anelídios (célula conidiogênica) com bases inchadas, sendo essa a característica mais útil na diferenciação desse organismo do S. apiospermum. S. prolificans é considerado resistente a quase todos os agentes antifúngicos de ação sistêmica, incluindo os triazóis de amplo espectro e as equinocandinas. Para infecção causada por ele, a ressecção cirúrgica ainda é a única terapia definitiva.

Infecções invasivas causadas por Sarocladium (Acremonium) spp. são quase exclusivamente observadas em pacientes com neutropenia, transplantes ou outras condições de imunodeficiência e são semelhantes à fusariose, com lesões cutâneas disseminadas hematologicamente e culturas de sangue positivas. As espécies de Sarocladium são comumente encontradas no solo e em alimentos e vegetação em decomposição. Suas colônias são cinza-esbranquiçadas ou róseas, com superfície aveludada a algodonosa. Podem apresentar cadeias de conídios unicelulares ou uma massa de conídios aglomerados, produzidas por fiálides afuniladas, curtas e não ramificadas. Ainda não foi estabelecido o tratamento ideal para infecções causadas por Sarocladium spp., pois há resistência à anfotericina B, ao itraconazol e às equinocandinas. Um recente relato de sucesso no uso de posaconazol para o tratamento de infecção pulmonar por Sarocladium (antigamente Acremonium) strictum sugere que os novos triazóis possam ser eficazes na terapia de infecções causadas por esse fungo.

Apesar de incomum, *Paecilomyces* spp. podem causar doença invasiva em receptores de células-tronco orgânicas ou hematopoéticas, indivíduos com AIDS e outros pacientes imunossuprimidos. O fungo geralmente penetra nos tecidos através de fissuras cutâneas e cateteres venosos, e se dissemina, auxiliado por sua capacidade de produzir conídios na adventícia (esporulação tecidual). As duas espécies importantes mais comuns medicamente são *P. lilacinus* e *P. variotti*. Em uma classificação taxonômica recente, o *Paecilomyces lilacinus* foi atribuído ao gênero *Purpureocillium (Purpureocillium lilacinus*). Microscopicamente, *Paecilomyces* spp. formam cadeias de conídios unicelulares, ovoides ou fusiformes. As fiálides têm a base dilatada e o colo longo e afunilado. A sensibilidade à anfotericina B varia, havendo relatos de resistência pelo *P. lilacinus*. Voriconazol tem sido usado com sucesso no tratamento de infecção cutânea grave e da doença disseminada.

Trichoderma spp. são excelentes exemplos de fungos anteriormente rotulados como não patogênicos que atualmente são patógenos emergentes importantes, acometendo pacientes imunossuprimidos e pacientes submetidos à diálise peritoneal. A forma disseminada e fatal da doença, causada por *T. longibrachiatum*, ocorre em pacientes com processos hematogênicos malignos, após o BMT ou transplante de órgãos sólidos. A maior parte das espécies de *Trichoderma* mostra suscetibilidade reduzida a anfotericina B, itraconazol, fluconazol e fluocitosina. O voriconazol parece ser ativo contra os poucos isolados testados.

Scopulariopsis spp. são saprófitas terrestres ubíquos no solo, que raramente têm sido implicados em doença invasiva no homem. S. brevicaulis é a espécie isolada com mais frequência e geralmente acomete as unhas; entretanto, já foi identificado como agente de infecção grave e profunda em pacientes com leucemia neutropênica e após BMT. Tanto a forma local quanto a disseminada têm sido descritas, com envolvimento do septo nasal, da pele e tecidos moles, sangue, pulmões e cérebro. O diagnóstico é feito por meio de cultura e

histopatologia. As espécies de *Scopulariopsis* crescem de forma moderada a acelerada, em meio micológico padrão. No início, as colônias são lisas, tornando-se granulares e, posteriormente, pulverulentas. Os conidióforos são simples ou ramificados; as células conidiogênicas são anelídeos que se formam de maneira única ou em cachos, podendo formar estrutura com aspecto de vassoura (*scopula*), semelhante às estruturas produzidas por *Penicilium* spp. Formam-se cadeias basípetas de aneloconídios piriformes (formato de lâmpada), inicialmente lisos e que se tornam rugosos com o amadurecimento. *Scopulariopsis* spp. são em geral resistentes ao itraconazol e moderadamente resistentes à anfotericina B. Infecções invasivas podem necessitar de tratamento médico e cirúrgico e são frequentemente fatais.

Feo-hifomicose

A **feo-hifomicose** é definida como uma infecção dos tecidos causada por fungos filamentosos ou leveduras dematiáceas (pigmentadas). As infecções causadas por esses fungos constituem um grupo significativo e cada vez mais prevalente de doenças fúngicas oportunistas e podem assumir forma disseminada ou localizar-se nos pulmões, seios paranasais e SNC. A inoculação primária, resultando em infecção localizada subcutânea, ocorre geralmente em países em desenvolvimento e foi discutida no Capítulo 63.

Muitos gêneros englobam fungos dematiáceos identificados como causadores de infecções em humanos, sendo mais comuns as espécies de *Alternaria, Bipolaris, Cladosporium, Curvularia* e *Exserohilum*. Além disso, vários fungos dematiáceos parecem ser neurotrópicos: *Cladophialophora bantiana, Bipolaris* (*Curvularia*) *spicifera, Exophiala* spp., *Wangiella dermatitidis, Ramichloridium obovoideum* e *Chaetomium atrobrunneum*. A mais comum apresentação no SNC é o abscesso cerebral. As infecções por *Bipolaris* (*Curvularia*) spp. e *Exserohilum* podem se apresentar inicialmente como sinusite que se estende para o SNC. O *Exserohilum rostratum* foi implicado em um grande surto iatrogênico nos Estados Unidos devido a preparações contaminadas de metilprednisolona, conduzindo a numerosos casos fatais de meningite e vasculite do SNC em indivíduos, de outra forma, imunocompetentes. Notavelmente, tanto a PCR quanto o teste β-d-glucana foram bastante úteis no diagnóstico e tratamento desses pacientes.

Nos tecidos, se observa a presença de hifas, podendo haver leveduras ou não. As paredes da célula podem ter um tom que vai do marrom-claro ao negro, devido à presença de pigmento semelhante à melanina, o que é bem evidenciado pela coloração por H&E ou Papanicolaou (Fig. 65-22). A coloração com a técnica de Fontana-Masson (específica para melanina) pode ajudar na visualização dos elementos dematiáceos.

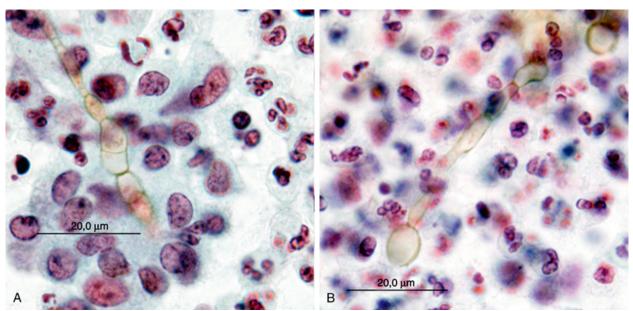


FIGURA 65-22 A e B, Aspirados de massa flutuante mostrando hifas dematiáceas de *Phialophora* verrucosa (Papanicolaou). (De Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: Clinical mycology, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone.)

Os fungos dematiáceos diferem consideravelmente no espectro clínico da infecção e na resposta à terapia. Além disso, os diferentes gêneros não são facilmente distinguíveis ao exame histopatológico. Por isso, um diagnóstico preciso baseado na cultura do tecido infectado é importante para um melhor tratamento da infecção causada por esses fungos.

Alternaria spp. são importantes agentes de sinusite paranasal em indivíduos saudáveis e imunossuprimidos. Outros locais de infecção incluem pele e tecidos moles, córnea, trato respiratório inferior e peritônio. Alternaria alternata é o mais bem documentado patógeno humano nesse gênero. Em cultura, as colônias de Alternaria crescem rapidamente, são algodonosas e sua cor inicialmente é cinza, podendo chegar ao negro. Os conidióforos geralmente são solitários, podendo ser simples ou ramificados. Os conídios se desenvolvem em cadeias ramificadas, são muriformes, com superfície lisa ou rugosa, e se afunilam em direção à extremidade distal com um pequeno bico no ápice (Fig. 65-23).

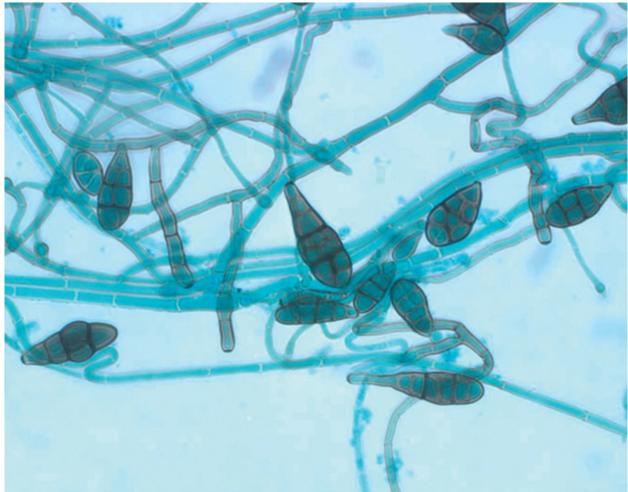


FIGURA 65-23 Alternaria sp. Preparação com lactofenol azul de algodão mostrando cadeias fortemente pigmentadas de conídios muriformes.

Cladosporium spp. costumam causar infecções cutâneas superficiais, mas podem provocar infecções profundas também. Esses fungos crescem rapidamente, com colônias aveludadas, cuja cor vai do cinza-esverdeado ao negro. Os conidióforos surgem das hifas e são dematiáceos, grandes e ramificados. Os conídios podem ser lisos ou rugosos, com uma ou várias células, formando cadeias ramificadas no ápice do conidióforo.

Curvularia spp. são habitantes ubíquos do solo e têm sido implicadas tanto em infecções locais quanto em disseminadas. Os processos podem envolver o endocárdio (endocardite), locais de introdução de cateter, septo nasal e seios paranasais, trato respiratório inferior, pele e tecidos subcutâneos, ossos e córnea. No tecido, as hifas podem aparecer não pigmentadas. As principais espécies consideradas na etiologia da infecção humana são *C. geniculata, C. lunata, C. pallescens* e *C. senegalensis*. Em cultura, as colônias têm um crescimento rápido, são algodonosas, e sua cor varia de cinza-claro a escuro. Microscopicamente, os conidióforos são dematiáceos, solitários ou em grupos, septados, simples ou ramificados, simpodiais e geniculados.

Infecções causadas pelos gêneros *Bipolaris* e *Exserohilum* são semelhantes à aspergilose, porém evoluem mais lentamente que esta última. Clinicamente, pode haver disseminação com invasão vascular e necrose tecidual, envolvimento do SNC e dos seios paranasais e associação a doença broncopulmonar alérgica. Tais organismos causam sinusites em hospedeiros "normais" (atópicos ou assintomáticos) e doença mais invasiva em hospedeiros imunossuprimidos. Em cultura, tanto *Bipolaris* quanto *Exserohilum* formam rapidamente colônias lanosas, que vão do cinza ao preto. Microscopicamente, os conidióforos são simpodiais e geniculados, produzem conídios dematiáceos multicelulares, com formato oblongo até cilíndrico (Fig. 65-24). As espécies *Bipolaris* preponderantes em infecções humanas são a *Bipolaris australiensis*, *B. hawaiiensis* e *B. spicifera*. Recentemente, essas espécies têm sido transferidas para o gênero *Curvularia*.

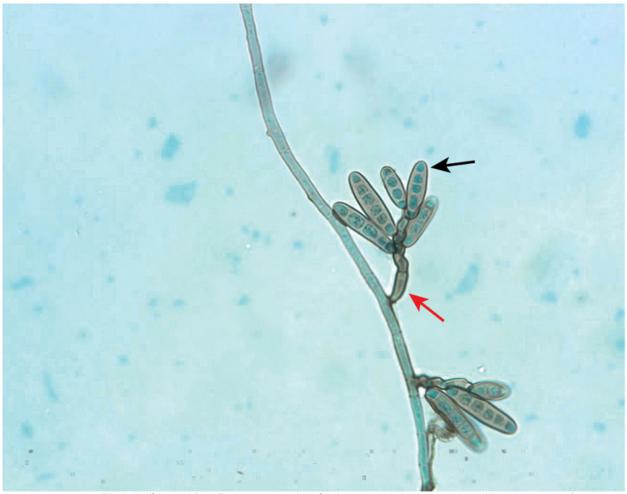


FIGURA 65-24 Bipolaris (Curvularia) sp. Preparação com lactofenol azul de algodão mostrando conídios pigmentados (seta preta) nascidos em conidióforos geniculados (seta vermelha).

O tratamento ideal para a feo-hifomicose profunda ainda não foi estabelecido, embora o mais frequente seja a administração precoce de anfotericina B e excisão cirúrgica agressiva. Apesar desses esforços, a feo-hifomicose não responde bem ao tratamento, e recidivas são comuns. O posaconazol tem sido utilizado com sucesso para tratar infecção disseminada causada por *Exophiala spinifera*. Nos pacientes com abscessos cerebrais, a completa excisão tem sido associada a aumento do índice de sobrevida. A terapia com triazóis (posaconazol ou voriconazol) de longo prazo, associada à repetição do procedimento cirúrgico, pode prevenir recorrências. O tratamento dos casos iatrogênicos de infecção devido a *E. rostratum* incluíam formulações lipídicas de anfotericina B e voriconazol.

Pneumocistose

Pneumocystis jirovecii (anteriormente Pneumocystis carinii) é um organismo que acomete quase exclusivamente pacientes debilitados e imunossuprimidos, em especial aqueles com infecção por HIV. É a micose oportunista mais comum em indivíduos com AIDS; entretanto, sua incidência diminuiu consideravelmente nos últimos anos com o uso de terapia antirretroviral extremamente ativa. Apesar de ter sido considerado por vários anos um parasita protozoário, evidências moleculares e genéticas o classificam entre os fungos (Cap. 57).

O ciclo de vida do *P. jirovecii* inclui componentes sexuados e assexuados. Durante o curso da infecção humana, esse organismo pode existir sob formas tróficas livres (1,5 a 5 μm de diâmetro), como um esporocisto unicelulado (entre 4 e 5 μm) ou como um cisto (5 μm), com até oito corpos intracísticos ovoides a fusiformes (Fig. 65-25). Após a ruptura do cisto, a parede deste pode ser vista como uma estrutura colapsada e vazia (Fig. 65-26).

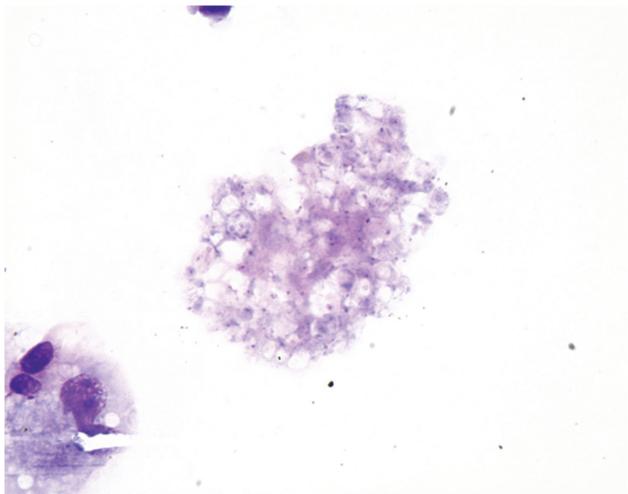


FIGURA 65-25 Pneumocystis jirovecii no lavado broncoalveolar. A coloração de Giemsa mostra formas intracísticas (ampliado 1.000 vezes).

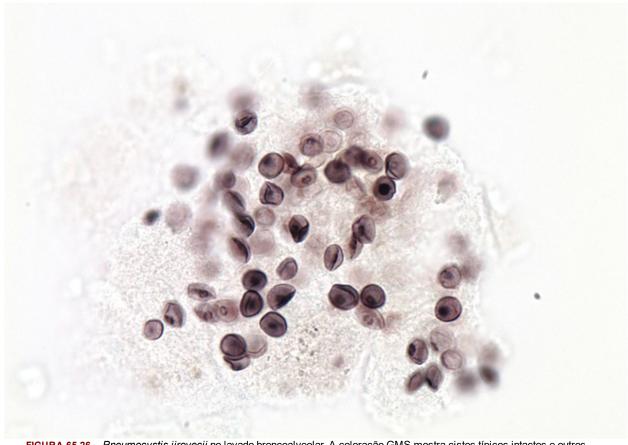


FIGURA 65-26 *Pneumocystis jirovecii* no lavado broncoalveolar. A coloração GMS mostra cistos típicos intactos e outros colapsados (ampliado 1.000 vezes).

O reservatório para *P. jirovecii* na natureza é desconhecido. Ainda que a transmissão pelo ar tenha sido documentada experimentalmente entre roedores, as cepas isoladas dentre esses são geneticamente diferentes das cepas humanas, tornando improvável que roedores sirvam como reservatório zoonótico para a doença humana.

O trato respiratório é a principal porta de entrada em humanos. A pneumonia é claramente a apresentação mais comum da pneumocistose, embora manifestações extrapulmonares possam ser vistas em pacientes com AIDS. Já houve relatos sobre o envolvimento dos linfonodos, baço, medula óssea, fígado, intestino delgado, trato genitourinário, olhos, ouvidos, pele, ossos e tireoide. Pesquisas recentes sugerem que pode ocorrer tanto infecção primária quanto a reativação de infecção antiga quiescente. Pacientes desnutridos, debilitados e imunossuprimidos, especialmente portadores de HIV com contagens baixas de CD4 ($< 200/\mu L$), estão sob alto risco de contrair esta infecção.

A característica marcante da infecção por *P. jirovecii* é uma pneumonite intersticial com infiltrado mononuclear, composto sobremaneira por células plasmáticas. O início da doença é insidioso, e o quadro clínico inclui dispneia, cianose, taquipneia, tosse não produtiva e febre. A radiografia mostra tipicamente infiltrados intersticiais difusos com aparência de vidro moído estendendo-se desde a região hilar; a radiografia pode ainda mostrar nódulos ou cavitações, ou estar aparentemente normal. A taxa de mortalidade é alta entre pacientes não tratados, e o óbito é causado por falência respiratória.

Em termos histológicos, um exsudato espumoso é observado no interior dos alvéolos, com intenso infiltrado intersticial composto predominantemente por células plasmáticas. Outros padrões possíveis são dano alveolar difuso, inflamação granulomatosa não caseosa e necrose tecidual semelhante a infarto.

O diagnóstico de infecção por *P. jirovecii* é quase completamente baseado no exame microscópico do material clínico, incluindo o lavado broncoalveolar (LBA), a escovação brônquica, o escarro induzido e a biópsia pulmonar transbrônquica ou aberta. O exame do LBA apresenta sensibilidade entre 90% e 100%, e geralmente evita a necessidade de biópsia. A microscopia do escarro induzido pode ser útil em pacientes HIV-positivos, com uma carga muito alta desse organismo; no entanto, esse exame pode apresentar 20% a 25% de resultados falso-negativos. Várias técnicas histológicas e citológicas têm sido usadas para detectar *P. jirovecii*: GMS, Giemsa, PAS, azul de toluidina, calcoflúor branco e imunofluorescência. A coloração de Giemsa demonstra as formas tróficas, mas não cora a parede do cisto (Fig. 65-25), enquanto a GMS é específica para evidenciar essa parede (Fig. 65-26). Técnicas imunofluorescentes colorem tanto as formas tróficas quanto a parede cística. O teste β-d-glucana provou ser muito útil para o diagnóstico rápido de pneumonia por *Pneumocystis*, com um elevado grau de sensibilidade e especificidade. Do mesmo modo, a PCR é bastante promissora e está comercialmente disponível na Europa.

Basicamente, utiliza-se sulfametoxazol-trimetoprim, tanto para profilaxia como no tratamento. Terapias alternativas com pentamidina, trimetoprim-dapsona, clindamicina-primaquina, atovaquona e trimetrexato têm sido utilizadas em pacientes com AIDS.

Referências Bibliográficas

Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. Clinical mycology. ed 2 New York: Churchill Livingstone; 2009.

Chandler FW, Watts JC. Pathologic diagnosis of fungal infections. Chicago: American Society for Clinical Pathology Press; 1987.

Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, et al. A global evaluation of voriconazole activity tested against recent clinical isolates of *Candida* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;63:233–236.

Dignani MC, Solomkin JS, Anaissie EJ. Candida. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. ed 2 New York: Churchill Livingstone; 2009.

Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. Clin Infect Dis. 2003;37:1172-1177.

Hidron AI, Edwards JR, Patel J, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29:996–1011.

Lockhart SR, et al. The epidemiology of fungal infections. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. Clinical mycology, ed 2. New York: Churchill Livingstone; 2009.

Pannuti CS, Gingrich RD, Pfaller MA, et al. Nosocomial pneumonia in adult patients undergoing bone marrow transplantation: a 9-year study. *J Clin Oncol.* 1991;9:1.

Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev. 2007;20:133–163.

Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive mycoses in North America. Crit Rev Microbiol. 2010;36:1-53.

Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance) registry, 2004-2008. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;74:323–331.

Pfaller MA, Messer SA, Woosley LN, et al. Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for clinical opportunistic yeast and mold isolates collected from 2010 to 2011: application of new CLSI clinical breakpoints and epidemiological cutoff values for characterization of geographic and temporal trends of antifungal resistance. *J Clin Microbiol.* 2013;51:2571–2581.

Viviani MA, Tortorano AM. Cryptococcus. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. ed 2 New York: Churchill Livingstone; 2009.

Wey SB, Mori M, Pfaller MA, et al. Hospital-acquired candidemia: attributable mortality and excess length of stay. Arch Intern Med. 1988;148:2642-2645.

Infecções Fúngicas ou Similares de Etiologia Incomum ou Incerta

Jim é um ex-fumante de 50 anos que foi ao médico de família para um exame físico anual. No processo, uma radiografia de tórax revelou um nódulo no lobo superior esquerdo do pulmão. Devido a sua idade e história prévia de tabagismo, Jim foi submetido a uma toracotomia, e o nódulo foi excisado. O exame patológico revelou fibrose e várias estruturas esféricas grandes, porém nenhuma evidência de câncer.

- 1. Qual é o diagnóstico diferencial de um nódulo pulmonar isolado?
- 2. Descreva como podem ser diferenciadas as esférulas de *Rhinosporidium seeberi* daquelas de *Coccidioides immitis* e *Emmonsia* spp.
- 3. Descreva o processo patológico da adiaspiromicose.
- 4. Quais dos seguintes agentes podem ser identificados utilizando-se sistemas de identificação de leveduras comercialmente disponíveis?
 - a. Lacazia loboi
 - b. Pythium insidiosum
 - c. Rhinosporidium seeberi
 - d. Prototheca wickerhamii

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Clorelose

Palavras-gatilho

Cloroplastos, lesões verdes, exposição à água, alga

Biologia, Virulência e Doença

- Infecção de seres humanos e animais causada por uma alga verde unicelular do gênero Chlorella
- Chlorella: unicelular, oval, esférica ou poligonal, reproduz-se por endosporulação
- Lesões frescas no fígado, nódulos linfáticos e tecido cutâneo mostram-se verdes ao exame macroscópico; esfregaços revelam organismos que contêm grânulos verdes refratáveis (cloroplastos)
- Uma única infecção humana relatada até agora; a maioria das infecções ocorre em ovinos e bovinos

Epidemiologia

- Infecção humana única no Nebraska; resultou da exposição de uma ferida cirúrgica a água do rio
- As infecções em animais domésticos e selvagens variam a partir do envolvimento de linfonodos e envolvimento de órgãos profundos a lesões cutâneas e subcutâneas, presumivelmente associados a exposição à água contendo o organismo

Diagnóstico

- Infecções por Chlorella spp. diagnosticadas por cultura e exames histopatológicos do tecido infectado
- Em cultura, as colônias são verde-brilhantes
- Montagens úmidas de exsudado ou preparações de contato de tecido infectado revelam células ovoides em endosporulação, com grânulos citoplasmáticos verdes característicos
- Em tecidos, as células coram com GMS e PAS, mas não coram com H&E

Tratamento, Prevenção e Controle

- Desbridamento repetido, irrigação com soluto de Dakin, absorção com compressa de gaze para drenagem e granulação
- Terapia com anfotericina B combinada com a administração de tetraciclina pode ser útil

Lacaziose

Palavras-gatilho

Trauma cutâneo, solo, vegetação, água, golfinhos, nódulos cutâneos, tropical

Biologia, Virulência e Doença

- Infecção fúngica crônica cutânea causada por Lacazia loboi
- *L. loboi*: fungo ascomiceto, reproduz por brotamento sequencial, forma cadeias celulares esféricas a ovais, ligadas por pontes tubulares estreitas
- Desenvolvimento lento de nódulos cutâneos de diferentes tamanho e forma
- Lesões nodulares similares a queloide são mais comuns; ocorrem na face, orelhas, braços, pernas, pés
- As lesões aumentam em tamanho e número durante um período de 40 a 50 anos
- A maioria dos pacientes assintomáticos; sem manifestações sistêmicas da doença

Epidemiologia

- Doença humana endêmica de regiões tropicais da América Central e do Sul
- L. loboi considerada como saprófita do solo e da vegetação
- Modo de infecção: trauma cutâneo; ocorre em indivíduos envolvidos na agricultura e desmatamento
- Lacaziose ocorre quer em golfinhos de água salgada, quer doce, o que sugere um reservatório aquático

Diagnóstico

- Baseado na demonstração de células de levedura no exsudato da lesão ou secções de tecido
- A biópsia revela um infiltrado granulomatoso disperso e numerosas formas fúngicas na derme e tecido subcutâneo

Tratamento, Prevenção e Controle

- Excisão cirúrgica de lesões localizadas
- Não responde à terapia antifúngica

Rinosporidiose

Palavras-gatilho

Lesões polipoides, orofaringe, esporângio, trofócitos, endoconídios, granulomatosa

Biologia, Virulência e Doença

- Doença granulomatosa de humanos e animais causada por Rhinosporidium seeberi
- Caracterizada pelo desenvolvimento de pólipos na nasofaringe e conjuntivais oculares
- Duas formas de desenvolvimento observados no tecido: forma esférica grande (esporângio) e uma forma trófica menor

Epidemiologia

- ≈ 90% de todos os casos conhecidos de rinosporidiose ocorre na Índia e Sri Lanka
- Habitat natural desconhecido
- Ocorre principalmente em homens com idades entre 20 a 40
- Parece estar associada a ambos os ambientes rurais e aquáticos
- Nenhuma evidência de que a rinosporidiose é contagiosa

Diagnóstico

- Exame histopatológico dos tecidos afetados; a aparência distinta de trofócitos e esporângios nas colorações de H&E de rotina é diagnóstico
- R. seeberi não foi desenvolvido em cultura

Tratamento, Prevenção e Controle

- A única forma eficaz de tratamento é a excisão cirúrgica das lesões
- Recorrência comum

Até aqui discutimos os processos micóticos causados por fungos razoavelmente bem caracterizados que podem servir como colonizadores, patógenos oportunistas ou patógenos verdadeiros. Ainda que muitos desses organismos tenham sido, de tempos em tempos, submetidos a uma reclassificação taxonômica, todos eles partilham as características do reino Fungi (Cap. 57). Uma notável exceção é *Pneumocystis jirovecii* (carinii), um organismo previamente considerado como protozoário e classificado hoje em dia como fungo da classe Pneumocistidiomicetos, com base em evidências moleculares (Caps. 57 e 65). O fato de *P. jirovecii* não crescer em meio artificial complicou sua caracterização e transferência à categoria taxonômica própria. Neste capítulo, discutiremos várias infecções que historicamente são consideradas representantes de processos fúngicos ou similares com base na apresentação clínica e histopatológica, semelhantemente às infecções por *P. jirovecii*, difíceis de classificar, pois não crescem em meio artificial. Em um exemplo, a evidência molecular atual sugeriu que um organismo que se pensava ser, previamente, um fungo (*Rhinosporidium seeberi*) é, de fato, um parasita protista. Também discutiremos duas infecções por algas e duas infecções incomuns causadas pelos Oomicetos, *Pythium*

insidiosum e Lagenidium spp. Além de serem incomuns, essas infecções são todas diagnosticadas com base na detecção de estruturas características no exame histopatológico de tecido. Uma lista de infecções, com os agentes etiológicos e a morfologia típica no tecido, é fornecida na Tabela 66-1.



Tabela 66-1

Aspectos Morfológicos das Infecções Fúngicas e Fungiformes de Etiologia Incomum ou Incerta

Doença	Agente(s) Etiológico(s)	Morfologia Típica no Tecido	Reação Comum no Hospedeiro
Adiaspiromicose	Emmonsia spp.	Adiaconídios grandes, de 200 a 400 μm de diâmetro, com paredes espessas (20–70 μm) (Fig. 66-1)	Granulomatosa fibrótica e não caseosa
Clorelose	Chlorella spp. (algas clorófilas verdes)	Organismos unicelulares endosporulados e arredondados, de 4–15 µm de diâmetro, contendo vários grânulos citoplasmáticos (cloroplastos). As lesões são pigmentadas de verde (Fig. 66-2)	Piogranulomatosa
Lacaziose (Lobomicose)	Lacazia loboi (Loboa loboi)	Leveduras esféricas com brotamento, 5–12 µm de diâmetro, que formam cadeias de células conectadas por estruturas tubulares; brotamento secundário pode estar presente (Fig. 66-3)	Granulomatosa
Prototecose	Prototheca wickerhamii, P. zopfii (algas aclorófilas verdes)	Esférulas esféricas, ovais ou poliédricas de 2–25 μm de diâmetro, contendo de 2–20 endósporos quando maduras (Fig. 66-5)	Variável; sem reação a granulomatosa
Pitiose insidiosa Lagenidiose	Pythium insidiosum, Lagenidium spp. (não são fungos verdadeiros; pertencem ao reino protista Stramenopila)	Hifas e fragmentos de hifas curtos, hialinos, de paredes finas, paucisseptadas, de ramificação irregular, de 5–7 μm (<i>Pythium</i>) a 9–18 μm (<i>Lagenidium</i>) de largura, contornos não paralelos; angioinvasivos (Fig. 66-6)	Arterite granulomatosa, necrotizante e supurativa
Rinosporidiose	Rhinosporidium seeberi (parasita protista aquático do clado Mesomycetozoa)	Esporângios grandes (100–350 μm de diâmetro) com paredes finas (3–5 μm), que encerram numerosos endósporos, (6–8 μm de diâmetro), com uma distribuição regional (Fig. 66-7)	Inflamatória ou granulomatosa inespecíficas crônicas

Dados de Chandler FW, Watts JC: Pathologic diagnosis of fungal infections, Chicago, 1987, American Society for Clinical Pathology Press; and Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, et al: *Pathology of infectious diseases*, vol 2, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.

Adiaspiromicose

Nos seres humanos, a adiaspiromicose é uma infecção pulmonar rara, autolimitada, causada pela inalação de conídio assexuado dos saprófitas do solo *Emmonsia crescens* e *Emmonsia parva*. Os sinônimos incluem **haplomicose** ou **adiaspirose**. Infecções disseminadas e pulmonares atribuídas às espécies dimórficas *Emmonsia pasteuriana* e espécies similares a *E. pasteurianum* são discutidas no Capítulo 64.

Morfologia

Os fungos *E. crescens* e *E. parva* crescem como fungos filamentosos em cultura à temperatura ambiente e na natureza. As hifas são septadas e ramificadas. Os pequenos (2 a 4 µm) aleurioconídios nascem nos conidióforos que se desenvolvem em ângulos retos a partir da hifa vegetativa. Em incubação a 40°C *in vitro*, ou quando inseridos nos pulmões, os conídios se transformam em adiaconídios esféricos, que aumentam seu tamanho, porém não mostram nenhuma evidência de replicação (p.ex., brotamento, formação de endósporo).

Quando maduros, os adiaconídios são esférulas de parede espessa medindo de 200 a 400 µm ou mais de diâmetro (Fig. 66-1; Tabela 66-1). As paredes da esférula são refratárias, de 20 a 70 µm de espessura, e quando coradas pela hematoxilina e eosina (H&E), são compostas de duas camadas: uma eosinofílica estreita e externa, contendo aberturas periódicas, e outra hialina larga e interna, composta predominantemente de quitina (Fig. 66-1). As paredes dos conídios coram-se pela prata metenamina de Gomori (GMS), ácido periódico de Schiff (PAS) e coloração de Gridley para fungos, mas não com mucicarmim (Tabela 66-2). No tecido pulmonar humano, os adiaconídios são, em geral, vazios, mas podem conter glóbulos eosinofílicos pequenos junto à superfície interna das paredes (Fig. 66-1).



FIGURA 66-1 Adiaspiromicose pulmonar. A coloração pela hematoxilina e eosina (H&E) define duas camadas na parede do adiaconídio. Cada adiaconídio incitou uma resposta fibrogranulomatosa. (H&E, ampliado 40 Vezes). (De Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, et al: Pathology of infectious diseases, vol 2, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)



Tabela 66-2

Aspectos Morfológicos dos Fungos e Organismos Fungiformes que Aparecem como Esférulas Grandes no Tecido

	Organismos		
Aspecto	Coccidioides immitis	Rhinosporidium seeberi*	Emmonsia spp.†
Diâmetro externo da esférula (µm)	20–200	10–350	200–400
Espessura da parede da esférula (µm)	1–2	3–5	20–70
Diâmetro dos endósporos (µm)	2–5	6–10 [‡]	Ausente
Pigmentação	Ausente	Ausente	Ausente
Hifas ou artroconídios	Raros	Ausente	Ausente
Reação do hospedeiro	Granulomas necróticos	Pólipos mucosos com inflamação aguda e crônica	Granulomas fibróticos
Crescimento em cultura	+	-	±§
Reações especiais aos corantes			
GMS	+	+	+
PAS	+	+	+
Mucicarmim	_	+	-

Modificada de Chandler FW, Watts JC: Pathologic diagnosis of fungal infections, Chicago, 1987, American Society for Clinical Pathology Press.

Epidemiologia

^{*} Não é um fungo. Recém-classificado como um parasita protista aquático do clado Mesomycetozoa.

[†] Adiaconídios.

[‡] Endósporos organizados em distribuição regional característica. Endósporos maduros contêm glóbulos eosinofílicos distintos.

[§] Cresce como um fungo filamentoso em meio ágar. Organismo irrecuperável de tecido.

Ainda que a adiaspiromicose humana seja incomum, a infecção prevalece mundialmente em roedores. O fungo também pode ser encontrado na natureza predominantemente em zonas temperadas. A doença humana tem sido reportada na França, República Tcheca, Rússia, Honduras, Guatemala, Venezuela e Brasil. Os roedores podem servir como reservatório zoonótico da doença. O modo provável de infecção é por inalação dos conídios fúngicos aerossolizados pelo solo contaminado.

Síndromes Clínicas

Como muitas infecções fúngicas, a maioria dos casos de adiaspiromicose documentados tem sido assintomática. Os nódulos pulmonares podem ser detectados por exames de imagem ou incidentalmente em autópsia ou amostras cirúrgicas de pulmão removido por outras razões.

Três formas de adiaspiromicose humana foram reconhecidas: granuloma solitário, doença granulomatosa localizada e doença granulomatosa disseminada difusa. Os pacientes com a forma granulomatosa disseminada da adiaspiromicose pulmonar podem apresentar febre, tosse e dispneia progressiva devido à compressão e ao deslocamento das vias aéreas distais e do parênquima alveolar pela expansão dos granulomas. A replicação fúngica nos pulmões não ocorre, e a disseminação extrapulmonar não tem sido reportada. A severidade da doença parece estar relacionada com o número de conídios inalados.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da adiaspiromicose é estabelecido pelo exame histopatológico do pulmão afetado e pela identificação dos adiaconídios característicos. Cada adiaconídio é circundado por uma resposta granulomatosa de células gigantes e epitelioides, que é cercada adicionalmente por uma cápsula densa de tecido fibroso (Fig. 66-1). Todos os granulomas estão num estágio similar de desenvolvimento, refletindo uma exposição em tempo único sem replicação subsequente dentro do pulmão.

As esférulas representadas pelos adiaconídios não devem ser confundidas com aquelas de *C. immitis* ou *R. seeberi*, dois outros organismos que produzem grandes esférulas no tecido (Tabela 66-2). Ao contrário de *C. immitis*, os adiaconídios de *Emmonsia* spp. são muito maiores, têm uma parede mais espessa e não contêm endósporos. Os esporângios de *R. seeberi* são distinguidos pela divisão em zonas dos esporangiósporos e dos característicos glóbulos eosinofílicos vistos dentro dos esporangiósporos maduros (Tabela 66-2). Nenhum outro fungo de importância clínica tem paredes tão espessas quanto àquelas dos adiaconídios de *Emmonsia* spp. A cultura do tecido infectado não é útil, pois os adiaconídios não representam uma forma replicativa do fungo.

Tratamento

A adiaspiromicose pulmonar humana é uma infecção autolimitada. A terapia antifúngica específica não é necessária.

Clorelose

A clorelose é uma infecção dos seres humanos e de animais causada por uma alga verde unicelular do gênero *Chlorella*. Ao contrário de *Prototheca*, outra alga que causa infecção humana, *Chlorella* contém cloroplastos que dão às lesões da clorelose uma cor verde distinta. A maioria das infecções com esse organismo ocorre em ovelhas e ruminantes. Até o presente, uma única infecção humana foi reportada.

Morfologia

Chlorella spp. são unicelulares, ovoides, esféricas ou poligonais, têm de 4 a 5 µm de diâmetro e se reproduzem por endosporulação. Os organismos contêm numerosos cloroplastos verdes que parecem grânulos citoplasmáticos. Os cloroplastos contêm grânulos de amido que se coram intensamente com GMS, PAS e coloração de Gridley para fungos. As paredes celulares podem apresentar duplo contorno (Fig. 66-2; Tabela 66-1). Chlorella spp. se reproduzem assexuadamente por septação interna e clivagem citoplasmática, produzindo mais de 20 células-filhas (esporangiósporos) dentro do esporângio (célula-mãe). Na maturação, a parede externa do esporângio se rompe e libera os esporangiósporos que vão gerar novas células.

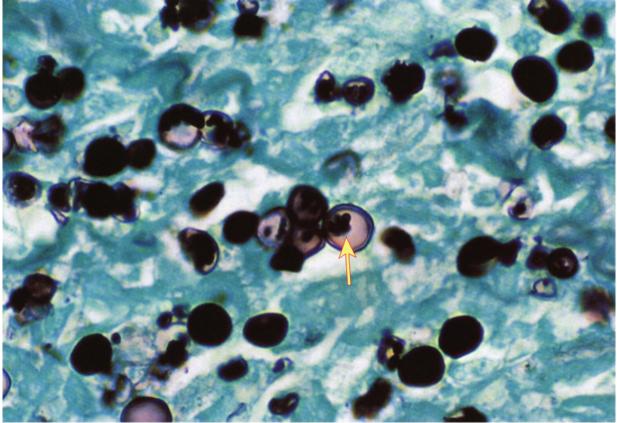


FIGURA 66-2 Chlorella sp. mostrando cloroplastos intracelulares (seta) e parede celular de contorno duplo (prata metenamina de Gomori, ampliado 400 vezes). (De Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, et al: Pathology of infectious diseases, vol 2, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Epidemiologia

O único caso humano de clorelose ocorreu em Nebrasca e resultou da exposição de uma ferida cirúrgica à água de rio. As infecções em animais domésticos (ovelha e gado) e selvagens (castor) variam desde o envolvimento de linfonodos e órgãos profundos a lesões cutâneas e subcutâneas relacionadas, presumivelmente, a exposição à água contendo o organismo.

Síndromes Clínicas

Como observado, o caso humano de clorelose envolveu uma ferida cirúrgica com cicatrização contaminada com água de rio. A ferida subsequentemente drenou um exsudato amarelo-esverdeado. A infecção foi curada por desbridamento cirúrgico repetido num período de 10 meses. Nos animais, lesões recentes no fígado, linfonodo e tecido subcutâneo são de cor verde no exame geral, e os esfregaços revelam organismos que contêm grânulos refratários verdes (cloroplastos).

Diagnóstico Laboratorial

As infecções causadas por *Chlorella* spp. podem ser diagnosticadas por cultura e exame histopatológico de tecido infectado. O organismo cresce bem na maioria dos meios sólidos, produzindo colônias verde-claras. Lâminas a fresco do exsudato da lesão ou decalques de tecido infectado revelam células ovoides endosporuladas com grânulos citoplasmáticos verdes característicos, representando os cloroplastos. Nos tecidos, as células se coram bem com os corantes de GMS e PAS, mas não com coloração por H&E. Elas podem ser distinguidas histologicamente de *Prototheca* pelos cloroplastos intracelulares.

Tratamento

O tratamento no único caso humano de clorelose consistiu em desbridamento repetido, irrigação com solução de Dakin e absorção com compressa de gaze para drenagem e granulação. Alternativamente, a terapia com anfotericina B combinada com administração de tetraciclina provou eficácia no tratamento da prototecose e pode ser útil também na clorelose.

Lacaziose (Lobomicose)

A lacaziose (Caso Clínico 66-1) é uma infecção fúngica crônica da pele causada por *Lacazia loboi* (*Loboa loboi*). *L. loboi* é atualmente classificado como um fungo ascomiceto da ordem Onygenales e da família Ajellomycetaceae. A doença é vista primeiramente nos trópicos das Américas do Sul e Central. A infecção natural ocorre apenas nos seres humanos e em

golfinhos, apesar de ter sido reproduzida, experimentalmente, por tecido infectado injetado em *hamsters* e tatus. O organismo nunca foi cultivado *in vitro*.



Caso Clínico 66-1 Lacaziose

Elsayed et al. (Emerg Infect Dis 10:715-718, 2004) descreveram um caso de lacaziose (lobomicose) em uma geóloga canadense. A paciente foi apresentada à sua dermatologista com lesão semelhante a placas de crescimento lento, com 1,5 cm de diâmetro, vermelho-escura, não mole, rodeada por cicatrizes queloidais localizadas na parte posterior e superior do braço direito. Estava localizada em uma cicatriz onde ocorreu uma tentativa de excisão de uma lesão similar 2 anos antes. A lesão original foi percebida pela primeira vez enquanto a paciente estava visitando o Sudeste Asiático em 1996, no entanto ela não procurou o atendimento médico até retornar ao Canadá, 1 ano depois. Na ocasião, coccidioidomicose foi diagnosticada, com base em um histórico de viagem a uma região endêmica e na presença de organismos ovais, leveduriformes nas secções histológicas. Entretanto, Coccidioides immitis nunca foi cultivado das lesões, e estudos sorológicos para essa infecção permaneceram negativos. Ela permaneceu bem até a nova lesão reaparecer no local da cicatriz e gradualmente aumentar de tamanho. A paciente tinha um extenso histórico de viagem, incluindo paradas prolongadas no México, Costa Rica, América do Sul, Indonésia e Filipinas. Durante suas viagens, ela quase sempre viveu em área de acampamento rural e teve extensa exposição a água doce, solo e cavernas subterrâneas. O histórico médico dela incluiu episódios de disenteria, dengue e helmintíase intestinal não relevante. Espécimes de biópsias de nova lesão foram obtidos e submetidos ao exame microscópico e patológico. A coloração das secções por hematoxilina e eosina mostrou dermatite granulomatosa difusa, superficial e profunda com células gigantes multinucleadas. São vistas células fúngicas intracelulares e extracelulares não coradas de parede espessa refratária. As células fúngicas se coram intensamente com os corantes ácido periódico de Schiff e GMS; as células são esféricas em formato de limão, com aproximadamente 10 µm de diâmetro, e tamanho uniforme. Estão dispostas como uma única célula ou em cadeias de brotamentos curtos conectadas por pontes tubulares estreitas. Os organismos eram não eram cultiváveis. A morfologia fúngica era consistente com Lacazia, (Loboa) loboi. A lesão foi completamente excisada sem subsequente reativação. Essa doença deve ser suspeitada em pacientes com lesão queloidal única ou múltipla de pele, em particular se eles tiveram viajado a áreas remotas da América Latina.

Morfologia

L. loboi apresenta uma morfologia leveduriforme, de esférica a ovalada. Os fungos têm de 6 a 12 μm de diâmetro e uma parede celular refratária dupla e espessa. Ele se reproduz por brotamento sequencial e forma, geralmente, cadeias de células conectadas por pontes tubulares estreitas (Fig. 66-3). Algumas dessas células podem ter um ou dois brotos secundários e ser confundidas pela forma de "roda de leme" de *Paracoccidioides brasiliensis*. *L. loboi* é, em geral, intracelular, embora formas extracelulares possam ser vistas.

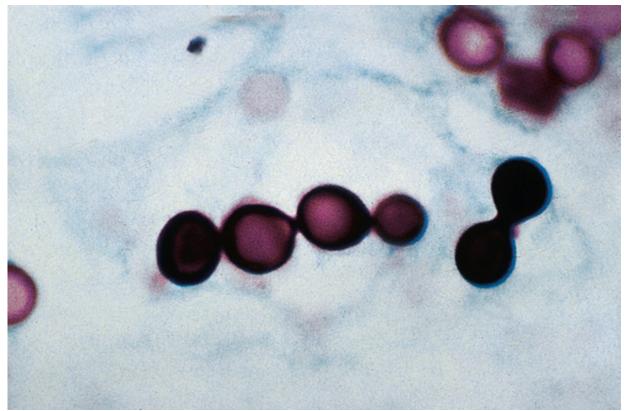


FIGURA 66-3 Lacazia loboi. Os fungos formam uma cadeia única com células individuais ligadas por pontes tubulares (Gridley, ampliado 400 vezes). (De Nikolaidis G, Rosen T: Lobomycosis. In Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, et al, editors: Pathology of infectious diseases, Norwalk, CT, 1997, Appleton & Lange.)

Epidemiologia

A doença humana é endêmica nas regiões tropicais das Américas do Sul e Central e tem sido reportada no centro e oeste do Brasil, Bolívia, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Equador, México, Panamá, Peru, Suriname e Venezuela. Casos isolados foram reportados na Holanda, e um único caso foi reportado nos Estados Unidos, em um paciente com histórico de viagem à Venezuela.

Acredita-se que *L. loboi* seja um saprófita do solo ou de vegetação, e a lacaziose predomina nas regiões tropicais com vegetação espessa, como as florestas tropicais da Amazônia. Acredita-se que o trauma cutâneo seja o modo de infecção. Um reservatório vegetal não foi identificado.

Uma vez que a lacaziose ocorre em golfinhos marinhos e de água doce, um *habitat* aquático também é provável. A infecção entre os golfinhos tem sido reportada na Flórida, na costa do Texas, na costa espanhola-francesa, na costa sul brasileira, e no estuário do rio Suriname. Um exemplo da transmissão do golfinho para o homem foi reportado; entretanto, não há evidência de transmissão do homem para o homem.

A lacaziose ocorre primariamente nos homens ou nas mulheres que estão envolvidos em atividades agrícolas ou de desmatamento. Lavradores, mineradores, caçadores e seringueiros têm maior incidência da doença. Não existe predileção racial, e a lacaziose afeta todas as faixas etárias, com início da fase de pico dos 20 aos 40 anos.

Síndromes Clínicas

A lacaziose é caracterizada pelo desenvolvimento lento de nódulos cutâneos de tamanho e forma variáveis (Fig. 66-4). As lesões cutâneas são polimórficas, variando de máculas, pápulas, nódulos queloides e placas a lesões ulceradas e verrugas, sendo possível a presença de todas as formas num único paciente (Fig. 66-4). A lesão nodular semelhante a queloide é mais comum. A doença é caracterizada por um período longo de dormência de meses a anos. O aumento no número e tamanho das lesões também é um processo lento, progredindo por um período de 40 a 50 anos. As lesões tendem a surgir em áreas traumatizadas da pele, como face, orelhas, braços, pernas e pés. A doença não envolve membranas mucosas ou órgãos internos. A disseminação cutânea local pode ocorrer através da autoinoculação. À parte o prurido ocasional e a hipestesia ou anestesia da área afetada, os pacientes são assintomáticos. Não existe manifestação sistêmica da doença.



FIGURA 66-4 Lesões múltiplas semelhantes a queloide da Lacaziose. (De Bolognia J, Jorizzo JL, Schaffer JV:Dermatology, London, 2012, Saunders, Fig. 77-25B; cortesia de Regina Carneiro, MD, e Caroline Brandao, MD.)

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico se baseia na presença das células leveduriformes características no exsudato da lesão ou em secções teciduais. A biópsia revela um infiltrado granulomatoso disperso junto com numerosas formas fúngicas na derme e no tecido subcutâneo. O granuloma consiste principalmente em células gigantes, macrófagos e células epitelioides. Tanto as células gigantes quanto os macrófagos contêm fungos que foram fagocitados.

L. loboi se cora intensamente com corantes de GMS e pelo método PAS. A coloração por H&E revela a parede celular espessa, com duplo contorno, de célula hialina e um ou mais núcleos hematoxilinofílicos.

Ainda que as lesões da lacaziose lembrem grosseiramente queloides, microscopicamente os queloides têm uma marcada fibrose, o que não é o caso com lacaziose. Similarmente, os queloides são desprovidos de granulomas e elementos fúngicos. A morfologia e o padrão do brotamento de *L. loboi* são característicos e não devem ser confundidos com aqueles de *P. brasiliensis* (brotamentos múltiplos, tamanho variável), *Blastomyces dermatitidis* e *Histoplasma capsulatum* var *duboisii* (sem cadeias de células), ou *Sporothrix schenckii* e *H. capsulatum* var *capsulatum* (ambos menores, de 2 a 8 μm *versus* 5 a 12 μm). Os últimos fungos também crescem em cultura, enquanto o *L. loboi* nunca foi cultivado *in vitro*.

Tratamento

A excisão cirúrgica de lesões localizadas é a melhor terapia. A doença mais disseminada, em geral, recorre quando tratada cirurgicamente e não responde à terapia antifúngica. A clofazimina tem sido utilizada nessas situações, porém, até agora, o tratamento médico da lacaziose não é satisfatório.

Prototecose

A prototecose é uma infecção que afeta seres humanos e animais, causada pela alga aclorófila do gênero *Prototheca*. Esses organismos pertencem à mesma família da alga verde do gênero *Chlorella*. Duas espécies, *P. wickerhamii* e *P. zopfii*, são conhecidas por causar infecção. Três formas de prototecose humana têm sido descritas: cutânea, bursite do olécrano e disseminada.

Morfologia

As espécies do gênero Prototheca são organismos unicelulares, ovais ou esféricos, que se reproduzem assexuadamente por septação interna e clivagem irregular dentro dos esporângios hialinos. Cada esporângio contém entre dois e 20

esporangiósporos organizados em uma configuração em "mórula" (Fig. 66-5). Os esporangiósporos são liberados após a ruptura do esporângio e desenvolvem-se em formas endosporuladas maduras. As células medem de 3 a 30 µm de diâmetro e diferem daquelas de *Chlorella* pela falta de cloroplastos. As espécies do gênero *Prototheca* diferem dos fungos pela ausência de glicosamina na parede celular. As duas espécies de *Prototheca* que causam doenças humanas diferem uma da outra em tamanho: *P. wickerhamii* mede de 3 a 15 µm de diâmetro, enquanto o diâmetro de *P. zopfii* mede de 7 a 30 µm. Ambas as espécies são coradas prontamente pelos métodos PAS, GMS e de Gridley para fungos (Fig. 66-5), e se coram como Grampositivas.

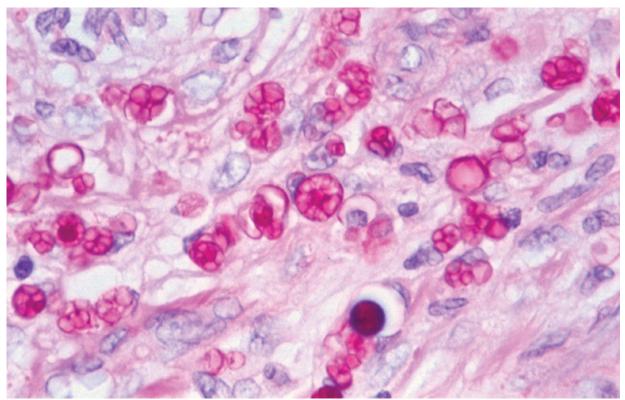


FIGURA 66-5 Prototheca wickerhamii. Algas únicas e endosporuladas que foram prontamente demonstradas com a coloração pelo método do ácido periódico de Schiff. Uma forma clássica em "mórula" está presente (ampliado 1.000 vezes).

Epidemiologia

Prototheca spp. são saprófitas ambientais ubíquos que têm sido isolados a partir da grama, do solo, da água e de animais selvagens e domésticos. A prototecose humana já foi reportada em todos os continentes, com exceção da Antártica.

Síndromes Clínicas

Pelo menos metade dos casos de prototecose é infecção cutânea simples. Na maior parte, essas infecções ocorrem em pacientes imunossuprimidos devido à terapia imunossupressora, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), desnutrição, doença renal ou hepática, câncer ou distúrbios autoimunes. As lesões, em geral, surgem em áreas expostas à implantação traumática e se apresentam de modo indolor com nódulos, pápulas ou erupção eczematoide.

Indivíduos que se apresentam com bursite do olécrano não são, em geral, imunossuprimidos, todavia relatam alguma forma de trauma penetrante ou não no cotovelo afetado. Os sinais e sintomas da bursite do olécrano ocorrem, geralmente, várias semanas após o trauma e incluem endurecimento brando da bursa, acompanhado de aumento da sensibilidade, eritema e produção de uma quantidade variável de líquido serossanguinolento.

A prototecose disseminada é rara, porém tem sido reportada em pessoas sem nenhuma deficiência imunológica conhecida. Um paciente com prototecose visceral apresentou dor abdominal, e os exames da função hepática anormal foram considerados, inicialmente, resultantes da colangite. Ele teve nódulos peritoneais múltiplos semelhantes a câncer metastático, mas foram, de fato, manifestações da prototecose. Outro paciente se apresentou com lesões prototecais na testa e no nariz.

Diagnóstico Laboratorial

Prototheca spp. crescem facilmente em uma ampla variedade de meios sólidos em 30°C a 37°C. As colônias são leveduriformes, brancas e cremosas na aparência e consistência. Lâmina a fresco do material de cultura pode ser corada com lactofenol azul algodão para revelar esporângios e esporangiósporos característicos. Os organismos são bastante ativos

metabolicamente e podem ser identificados em espécies utilizando-se painéis de identificação de leveduras comercialmente disponíveis para determinar o perfil de assimilação de carboidratos.

No exame histopatológico do tecido infectado, *Prototheca* spp. aparecem como esporangiósporos em forma de cunha e organizados num padrão radial ou em "mórula" dentro do esporângio (Fig. 66-5). Os organismos são mais bem visualizados por corantes utilizados para demonstrar fungos no tecido: GMS, PAS e coloração de Gridley. Além das diferenças de tamanho observadas anteriormente, as duas espécies de *Prototheca* diferem por *P. wickerhamii* tender a formar mórulas muito simétricas, estruturas raras em *P. zopfii*, que exibe divisões internas mais aleatórias. A resposta inflamatória na prototecose é predominantemente granulomatosa.

Tratamento

O tratamento da bursite do olécrano envolve, geralmente, a bursectomia. A drenagem repetida não tem sucesso; entretanto, a drenagem associada à instilação local de anfotericina B foi curativa em um paciente. O tratamento da prototecose cutânea com uma variedade de agentes antibacterianos, antifúngicos e antiprotozoários tópicos e sistêmicos não tem alcançado sucesso. A excisão local associada à anfotericina B tópica, tetraciclina sistêmica e cetoconazol sistêmico provou sua utilidade, apesar da hepatotoxicidade relacionada com o cetoconazol. A prototecose disseminada tem sido tratada com agentes antifúngicos sistêmicos; tanto a anfotericina B quanto o cetoconazol têm sido utilizados.

Pitiose insidiosa

A pitiose (Caso Clínico 66-2) insidiosa é uma infecção "fungiforme" do ser humano e dos animais causada pelo fitopatógeno *P. insidiosum*. Apesar de ter sido descrito como fungo aquático, este organismo não é um fungo verdadeiro, e sim um oomiceto que pertence ao reino protista Stramenopila, próximo às algas verdes e a algumas plantas inferiores na árvore evolutiva. Nos seres humanos, a pitiose causa ceratite e infecções orbitais, assim como um processo vascular cutâneo e subcutâneo marcado por lesões granulomatosas de desenvolvimento rápido, levando à insuficiência arterial progressiva, infarto tecidual, aneurismas e, ocasionalmente, óbito. Nos animais (gatos, cães, cavalos, gado), é uma infecção óssea, subcutânea ou pulmonar. Os cães e cavalos também podem se apresentar com infecção intestinal.



Caso Clínico 66-2 Pitiose

Bosco et al. (Emerg Infect Dis 11:715-718, 2005) descreveram um caso de pitiose em um homem brasileiro de 49 anos. O paciente foi admitido no hospital para tratamento de uma lesão na pele de sua perna, inicialmente diagnosticada como mucormicose (zigomicose) cutânea. Ele informou o desenvolvimento de uma pequena pústula na sua perna esquerda 3 meses antes, 1 semana após ele pescar em um lago com água parada. A pústula foi inicialmente diagnosticada como celulite bacteriana; foi tratada com antibióticos intravenosos, sem melhora. A biópsia da lesão mostrou uma inflamação granulomatosa supurativa com várias hifas não septadas (mostradas pela coloração GMS), um achado que levou ao diagnóstico de zigomicose. O tratamento foi modificado para anfotericina B. Após receber 575 mg (dosagem acumulativa) de anfotericina B mais dois desbridamentos cirúrgicos, o paciente mostrou só uma pequena melhora; ele então foi transferido para outro hospital. Na admissão, o exame físico mostrou uma úlcera pré-tibial de 15 cm de diâmetro com as bordas proximais infiltradas e nodulares. Análise química do soro mostrou azotemia, hipocalemia e anemia como efeitos colaterais ao tratamento com anfotericina B. A contagem de células brancas era de 4.200/mm³ com 9% de eosinófilos. A glicose no sangue era normal e a sorologia era negativa para o vírus da imunodeficiência humana. O resultado da segunda biópsia novamente sugeriu zigomicose. O paciente recebeu itraconazol e iodeto de potássio sem melhora clínica significativa. As tentativas de isolar os organismos em laboratório falharam. Com o progresso da doença, um desbridamento cirúrgico extenso foi considerado. A terapia com anfotericina B foi iniciada, a lesão foi desbridada em profundidade até a fáscia lata. Um enxerto de pele foi colocado e produziu uma melhora aceitável. O tecido foi submetido a cultura e testes moleculares, utilizando um iniciador genérico para regiões ITS (do inglês, internal transcribed spacer) do DNAr fúngico. As culturas cresceram sem cor, com aspecto microscópico mostrando amplas ramificações com escassas hifas septadas sem corpos de frutificação, que posteriormente foram identificadas como Pythium insidiosum. A reação em cadeia da polimerase seguida do sequenciamento dos amplicons de ITS deu resultados indicando 100% de identidade com Pythium insidiosum. Esse caso ilustra problemas clínicos e diagnósticos que rodeiam a pitiose humana.

Morfologia

P. insidiosum cresce como colônias brancas com hifas vegetativas submersas e aéreas curtas em meio de cultura sólido. Como esse organismo é um patógeno vegetal, requer culturas aquáticas contendo folhas apropriadas para produzir zoosporângios e zoósporos in vitro. Na natureza, ele produz zoósporos biflagelados que se unem e penetram nas folhas de várias gramas e de lírios aquáticos. Os zoósporos têm um forte tropismo à pele e ao pelo, como ao lírio aquático e às folhas de gramas. Se os zoósporos entram em contato com o tecido lesionado, eles encistam, formam tubos germinativos que produzem as hifas e causam doença invasiva.

No tecido, *P. insidiosum* existe como hifas hialinas, paucisseptadas, de paredes finas ou fragmentos de hifa que se ramificam esporadicamente. As hifas são de 5 a 7 µm de largura com contornos não paralelos que se assemelham superficialmente àqueles dos mucormicetos (Fig. 66-6). Assim como estes, *P. insidiosum* é angioinvasivo, e, no tecido, as hifas se coram com corantes de GMS, mas não com H&E ou outros corantes fúngicos.

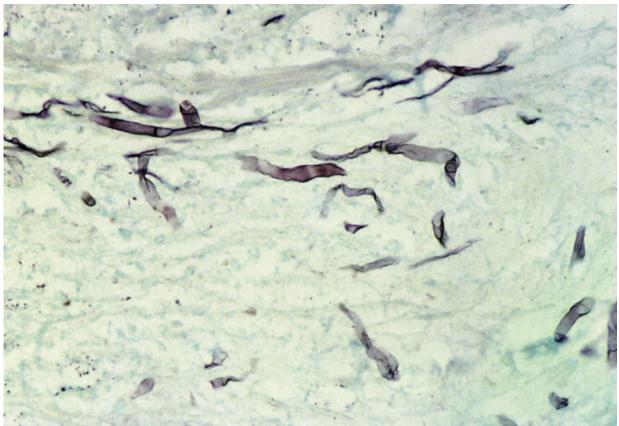


FIGURA 66-6 Pythium insidiosum invadindo uma parede arterial. Hifas esporadicamente septadas e coradas fracamente, e hifas fragmentadas lembrando aquelas dos Mucormicetos (prata metenamina de Gomori, ampliado 160 vezes). (De Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, et al: Pathology of infectious diseases, vol 2, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Epidemiologia

P. insidiosum cresce em ambientes aquáticos e úmidos nas regiões tropicais e subtropicais. Os relatos de pitiose vêm da Austrália, Costa Rica, Índia, Nova Guiné, Tailândia, Japão e Estados Unidos.

Síndromes Clínicas

A doença humana causada por *P. insidiosum* ocorreu em pacientes com talassemia que desenvolveram pitiose insidiosa nos membros inferiores. A doença foi marcada por isquemia progressiva dos membros inferiores, necrose, trombose das principais artérias devido à invasão de hifas, gangrena, formação de aneurisma e, eventualmente, hemorragia fatal. A pitiose orbital tem sido diagnosticada erroneamente como uma infecção fúngica mucormicótica. As formas menos sérias da infecção incluem ceratite e infecções cutâneas localizadas após lesão.

Nos cavalos, a pitiose se apresenta como inflamação localizada e úlceras necróticas das pernas e da parte inferior do abdome com centros necróticos. A artrite séptica, osteíte e tenossinovite também são comuns.

Diagnóstico Laboratorial

O organismo pode ser isolado de material clínico recente, semeado em meio micológico como ágar Sabouraud glicose. A demonstração dos zoósporos biflagelados pode ser realizada utilizando-se culturas aquáticas com isca de grama ou lírios incubados em 37°C por 1 hora. O ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA) ou *Western blot* têm sido úteis na detecção precoce da doença em seres humanos e em animais.

O exame histopatológico do tecido infectado mostra uma arterite necrotizante e trombose. A invasão vascular é vista por hifas septadas em pouca quantidade e ramificadas irregularmente (Fig. 66-6). A reação inflamatória perivascular aguda é eventualmente substituída por granulomas que contêm hifas em pouca quantidade e hifas fragmentadas. As hifas de *P. insidiosum* podem se apresentar rodeadas por material eosinofílico associado ao fenômeno de Splendore-Hoeppli. A pitiose insidiosa em humanos deve ser diferenciada da mucormicose cutânea e subcutânea, esporotricose, micetoma e neoplasias.

Tratamento

Embora o iodeto de potássio tenha sido utilizado para tratar as infecções cutâneas, o tratamento clínico da pitiose insidiosa não é, geralmente, efetivo. O desbridamento e a excisão cirúrgica do tecido infectado têm sido utilizados com algum êxito. Existe alguma evidência de que os agentes antifúngicos azólicos (p.ex., fluconazol, cetoconazol, miconazol) exibem atividade *in vitro* contra este organismo. O caso de pitiose orbital respondeu bem à combinação de itraconazol e terbinafina, apesar de esta combinação não ter sucesso em outros casos de pitiose. Imunoterapia tem sido utilizada no tratamento da pitiose equina e tem 55% de taxa de cura na doença humana.

Lagenidiose

Como o *P. insidiosum*, o *Lagenidium* spp. é um oomiceto que causa infecções em mamíferos, raramente em seres humanos. Membro do gênero *Lagenidium* também causa infecções em animais inferiores, incluindo caranguejos, nemátodos e larvas de mosquito, entre outros. Nos mamíferos, a infecção apresenta-se com envolvimento da pele e posteriormente disseminase aos vasos sanguíneos. Esses organismos estão atualmente classificados dentro do Reino Stramenopila, Filo Heterokontophyta, Classe Oomycota, Ordem Lagenidiales e Família Lagenidiaceae.

Morfologia

Em contraste com outros patógenos contemplados neste capítulo, o *Lagenidium* spp. cresce rapidamente em meios de isolamento de rotina para fungos. No meio de ágar, esses organismos crescem prontamente a 37°C, como colônias branco-amareladas submersas, sem micélios aéreos. De forma semelhante ao *P. insidiosum*, o *Lagenidium* spp. produz hifas de 9 a 18 µm semelhantes a fitas, com estruturas esféricas de 20 a 45 µm de diâmetro. Em meios líquidos podem ser vistas vesículas nas pontas das hifas indiferenciadas. A presença de estruturas sexuais (oogônia) ainda não foi descrita. As duas espécies mencionadas na literatura até o momento, *L. caninum* e *L. karlingii*, não foram submetidas a uma descrição formal taxonômica.

Epidemiologia

Atualmente, a maioria dos casos de lagenidiose em mamíferos foram relatados nos Estados Unidos e nas mesmas áreas que as infecções por *P. insidiosum*: Estados fronteiriços com o Golfo do México, bem como Arkansas, Geórgia, Illinois, Indiana, Maryland, Carolina do Norte e do Sul, Tenessee e Virgínia, entre outros. O *Lagenidium* completa o seu ciclo de vida em ambientes aquáticos, possivelmente usando plantas ou hospedeiros animais inferiores. Além das regiões mencionadas, um caso de ceratite humana causada por *Lagenidium* foi reportado na Tailândia, e a lagenidiose em um cão foi reportada na Austrália. Pensa-se que a infecção é iniciada quando os zoósporos presentes em ambiente contaminado penetram através de lesões cutâneas abertas. A lagenidiose não parece ser transmitida de um hospedeiro infectado para outro, e a tentativa de estabelecer a infecção em camundongos tem sido infrutífera.

Síndrome Clínica

Tal como acontece com *P. insidiosum, Lagenidium* spp. causa infecções que vão desde cutâneas superficiais ao envolvimento subcutâneo e arterial. A infecção sistêmica parece ser rara. Nos seres humanos e animais, os locais de infecção são córnea, trato gastrointestinal e membros.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de infecção por *Lagenidium* spp. pode ser feito por microscopia direta e cultura de material retirado do local da infecção. Ao exame microscópico de amostras citológicas coradas com Giemsa, os *Lagenidium* spp. aparecem como hifas amplamente ramificadas. Na cultura em meio de ágar Sabouraud glicose, colônias planas glabras submersas branco-amareladas podem ser observadas no ágar durante incubação a 37°C durante 24 a 48 horas. Microscopicamente, as hifas são cenocíticas e largas (9 a 18 µm), com estruturas esféricas grandes conectadas por pequenos segmentos de hifas. A observação de estruturas esféricas ligadas por pequenos túbulos pode ser utilizada para diferenciar *Lagenidium* spp. de *P. insidiosum*; no entanto, estudos moleculares têm sido muitas vezes necessários para fazer essa distinção. A detecção de anticorpos, usando ensaio de imunossorvente ligado a enzima (ELISA) e ensaios de *Western blot*, foi utilizada tanto para o diagnóstico como para a monitorização da resposta à terapia. Uma forte reação cruzada com antígenos de *P. insidiosum* foi observada com o teste de ELISA.

Tratamento

Em contraste com os fungos, as oomicetos não têm ergosterol nas suas membranas citoplasmáticas, impedindo, assim, a eficácia com antifúngicos dirigidos a essa via de esteróis. Apesar da característica, vários agentes antifúngicos têm sido empregados, quer na clínica, quer *in vitro*, com resultados diversos. Tal como acontece com a pitiose, a resseção cirúrgica precoce é recomendada como o tratamento de escolha.

Rinosporidiose

A rinosporidiose (Caso Clínico 66-3) é uma doença granulomatosa de homens e animais caracterizada pelo desenvolvimento de pólipos que afetam principalmente a nasofaringe e as conjuntivas oculares das pessoas infectadas. A doença é causada por *R. seeberi*, um organismo com um histórico taxonômico confuso. Tal organismo foi considerado um protozoário, um fungo, e, mais recentemente, foi classificado como parasita protista aquático, o Mesomycetozoa. Visto que *R. seeberi* não cresce em meio sintético, esta reclassificação se baseou na análise sequencial do ácido desoxirribonucleico ribossômico (DNAr) da pequena subunidade 18S desse organismo. Essa análise colocou *R. seeberi* entre os Mesomycetozoa (ex-DRIP: *Dermocystidium*, agente roseta, *Ichthyophonus* e *Psorospermium*), uma chave de parasitas dos peixes que formam uma ramificação da árvore evolutiva próxima da divergência fúngica e animal.



Caso Clínico 66-3 Rinosporidiose

Gaines e Clay (*South Med J* 89: 65-67, 1996) descreveram três casos de rinosporidiose em jovens que não tinham viajado para fora dos Estados Unidos. De fato, não havia relato de viagens deles para fora do estado da Geórgia. Todos os pacientes viveram em área rural na parte nordeste do país. Um tinha uma lesão polipoide conjuntival; e os outros dois, pólipos nasais. Em cada caso, as lesões foram excisadas, e o exame histopatológico revelou estruturas morfologicamente típicas de *Rhinosporidium seeberi*. Nenhum outro tratamento foi dado, e o seguimento não mostrou evidência de reativação. Além da natureza muito rara desses casos, a aparência distinta das formas desenvolvidas de *R. seeberi* nas secções histológicas é diagnóstica.

Morfologia

Devido ao fato de *R. seeberi* não crescer em meio artificial, as descrições morfológicas são totalmente baseadas no organismo, conforme ele aparece no tecido infectado. Dois tipos de morfologias de *R. seeberi* são vistos no tecido: a forma grande e esférica (esporângios) e o trofócito, a forma menor. O esporângio é considerado a forma madura do organismo e mede de 100 a 350 µm de diâmetro. A parede esporangial é de 3 a 5 µm de espessura e é composta de uma camada hialina interna e uma camada eosinofílica externa fina. O esporângio contém numerosos endoconídios organizados em uma formação regional característica, em que os endoconídios imaturos, pequenos, planos e uninucleados (1 a 2 µm) formam uma massa crescente na periferia de uma parede do esporângio, com a maior maturação e endoconídios maduros organizados sequencialmente em direção ao centro. Os endoconídios maduros variam em tamanho de 5 a 20 µm de diâmetro e contêm vários glóbulos citoplasmáticos refratários. Essa organização regional dos endoconídios imaturos, maduros e completamente maduros é o diagnóstico desse patógeno e o distingue de outros organismos endoesporulados esféricos no tecido (Tabela 66-2).

Considera-se que os trofócitos se desenvolvem diretamente dos endoconídios que foram liberados do esporângio. Os trofócitos variam em tamanho de 10 a 100 µm de diâmetro e têm paredes eosinofílicas refratárias (2 a 3 µm de espessura), citoplasma granular e um núcleo arredondado claro com um nucléolo proeminente. No final, os trofócitos aumentam e se transformam em esporângios maduros através de um processo de endosporulação.

As paredes dos esporângios e endoconídios se coram com corantes fúngicos de GMS e pelo método de PAS. Além disso, as paredes dos endoconídios e a parede interna do esporângio se coram positivamente com o corante mucicarmim (Fig. 66-7; Tabela 66-2).

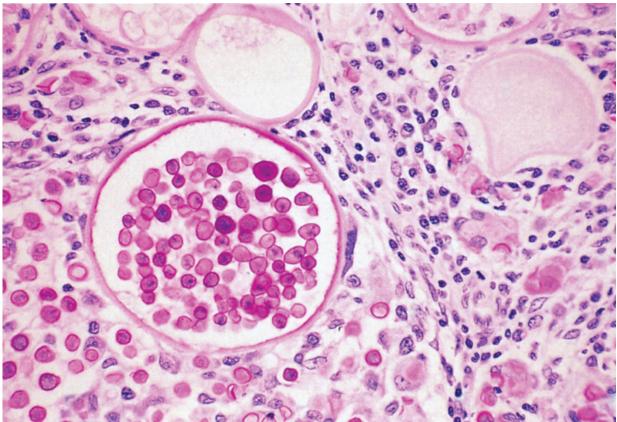


FIGURA 66-7 Esporângio maduro de *Rhinosporidium seeberi*. As paredes dos esporangiósporos maduros são carminofílicas. (Mucicarmim de Mayer, ampliado 100 vezes). (De Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, et al: *Pathology of infectious diseases*, vol 2, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Epidemiologia

Cerca de 90% de todos os casos conhecidos de rinosporidiose ocorrem na Índia e no Sri Lanka. A doença ocorre também nas Américas, Europa e na África. O *habitat* e a extensão da distribuição de *R. seeberi* na natureza são desconhecidos. A doença ocorre principalmente em homens jovens entre 20 a 40 anos e parece estar associada a ambientes rurais e aquáticos. Não há evidência de que a rinosporidiose seja contagiosa.

Síndromes Clínicas

A rinosporidiose se manifesta como massas polipoides ou semelhantes a tumores de crescimento lento, quase sempre da mucosa nasal ou das conjuntivas. As lesões também podem ser vistas nos seios paranasais, na laringe e nos genitais externos. Parece que a disseminação secundária à pele circunjacente resulta da autoinoculação pelo prurido. Na maioria dos pacientes, a doença permanece localizada, e os sintomas são, principalmente, obstrução e sangramento nasal como resultado da formação do pólipo. A disseminação sistêmica limitada já foi reportada, porém é rara.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da rinosporidiose é feito pelo exame histopatológico do tecido afetado. A aparência característica dos trofócitos e esporângios nas secções coradas por H&E de rotina é diagnóstica. Ainda que outros organismos que ocorrem no tecido na forma de esférulas grandes possam ser confundidos com *R. seeberi*, eles são, em geral, facilmente diferenciados deste pela consideração do tecido envolvido e pelas características morfológicas e de coloração da esférula e dos endósporos (Tabela 66-2).

Tratamento

A única forma efetiva de tratamento é a excisão cirúrgica das lesões. As recorrências são comuns, especialmente nos locais de mucosas, como a orofaringe e os seios paranasais, onde a excisão completa é, muitas vezes, difícil de conseguir.

Referências Bibliográficas

Burns RA, Roy JS, Woods C, et al. Report of the first human case of lobomycosis in the United States. *J Clin Microbiol*. 2000;38:1283–1285. Chandler FW, Watts JC. *Pathologic diagnosis of fungal infections*. Chicago: American Society for Clinical Pathology Press; 1987. Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA et al. . *Pathology of infectious diseases*. Stamford, Conn: Appleton & Lange; 1997.

- Fredericks DN, Jolley JA, Lepp PW, et al. *Rhinosporidium seeberi*: a human pathogen from a novel group of aquatic protistan parasites. *Emerg Infect Dis*. 2000;6:273–282.
- Grooters AM. Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. Vet Clin Small Anim. 2003;33:695-720.
- Herr RA, Ajello L, Taylor JW, et al. Phylogenetic analysis of *Rhinosporidium seeberi's* 18S small-subunit ribosomal DNA groups this pathogen among members of the protoctistan Mesomycetozoa clade. *J Clin Microbiol.* 1999;37:2750–2754.
- Krajaejun T, Sathapatayavongs B, Pracharktam R, et al. Clinical and epidemiological analysis of human pythiosis in Thailand. *Clin Infect Dis*. 2006;43:569–576.
- Lass-Florl C, Mayr A. Human protothecosis. Clin Microbiol Rev. 2007;20:230–242.
- Mendoza L, Prasla SH, Ajello L. Orbital pythiosis: a nonfungal disease mimicking orbital mycotic infections, with a retrospective review of the literature. *Mycoses*. 2004;47:14–23.
- Mendoza L, Vilela R. Lacazia, Pythium, and Rhinosporidium. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.
- Reinprayoon U, Permpalung N, Kasetsuwan N, et al. *Lagenidium* sp. Ocular infection mimicking ocular pythiosis. *J Clin Microbiol.* 2013;51:2778–2780.
- Taborda PR, Taborda VA, McGinnis MR. Lacazia loboi gen. nov., comb. nov., the etiologic agent of lobomycosis. *J Clin Microbiol*. 1999;37:2031–2033.

CAPÍTULO 67

Micotoxinas e Micotoxicoses

Um homem de 42 anos, na Índia, comeu milho cultivado em casa por muitos dias e começou a apresentar sinais de hepatite. Ele foi levado rapidamente ao hospital, onde morreu por insuficiência hepática aguda.

- 1. Qual foi a causa mais provável da insuficiência aguda hepática?
 - a. Ocratoxina
 - b. Aflatoxina
 - c. Hepatite A
 - d. Citreoviridina
- 2. Qual foi provavelmente o organismo responsável por essa enfermidade tóxica?
 - a. Aspergillus fumigatus
 - b. Aspergillus terreus
 - c. Fusarium moniliforme
 - d. Aspergillus flavus
- 3. Quais são as consequências em longo prazo da exposição crônica em níveis baixos dessa micotoxina?
 - a. Carcinoma hepatocelular
 - b. Anemia aplásica
 - c. Câncer esofágico
 - d. Câncer de bexiga

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Micotoxinas e Micotoxicoses

Palavras-gatilho

Grãos contaminados, aflatoxina, carcinogênico, fungos filamentosos, nefrotoxina, hepatotoxina, pancitopenia

Biologia, Virulência e Doença

- As micotoxinas são metabólitos secundários dos fungos que causam doenças conhecidas coletivamente como micotoxicoses, após a ingestão, inalação ou contato direto com a toxina
- Entre as micotoxinas mais importantes e seus efeitos tóxicos principais estão: aflatoxinas (carcinogênicas), citrinina (nefrotoxina), alcaloides do ergot (ou esporão do centeio) (convulsivos e gangrenosos), fumonisinas (cancerígenas), ocratoxina (nefrotoxina), tricotecenos (toxicidade na medula óssea), stachybotryotoxinas (neurotoxina)
- As micotoxinas são produzidas por fungos filamentosos (bolores), muitos dos quais podem também servir como agentes patogênicos oportunistas que causam doença invasiva em indivíduos imunocomprometidos
- As micotoxicoses podem manifestar-se como doença aguda ou crônica, que vão desde a morte rápida à formação de tumores
- Há mais de 100 fungos toxigênicos e mais de 300 compostos reconhecidos como micotoxinas

Epidemiologia

- O número de pessoas afetadas é desconhecido
- A maioria das micotoxicoses resultam da ingestão de alimentos contaminados (grãos, amendoim, cana, feno), mais comumente causadas por contaminação pré-colheita do material por fungos toxigênicos que são patógenos de plantas
- Comum em países com poucos recursos onde os métodos de manuseamento e armazenamento de alimentos são inadequados, a desnutrição é prevalente, e há poucos regulamentos para proteger as populações expostas

Diagnóstico

- Dada a ampla gama de toxinas e grande diversidade de sinais e sintomas clínicos, o diagnóstico é geralmente feito
 com bases epidemiológicas que apontam para uma exposição a alimentos contaminados ou exposição a domicílios ou
 locais de trabalho onde foi observado o bolor (síndrome do edifício doente)
- Para muitas micotoxicoses, a ligação entre a toxina e/ou bolor e a doença clínica é bastante incerta

Tratamento, Prevenção e Controle

- Além da terapia de suporte, quase não existem tratamentos para a exposição a micotoxinas
- Em alguns casos de hepatotoxicidade aguda, o transplante hepático pode ser salvador da vida
- As micotoxicoses não são transmissíveis de pessoa a pessoa

Além de seu papel como patógenos oportunistas, os fungos filamentosos podem produzir toxinas que têm sido implicadas em uma variedade de doenças e síndromes clínicas em humanos e em animais. Essas micotoxinas são metabólitos fúngicos secundários que causam doenças, conhecidas coletivamente como *micotoxicoses*, após ingestão, inalação, ou contato direto com a toxina (Fig. 67-1). As micotoxicoses podem se manifestar como doença aguda ou crônica, variando desde o desenvolvimento de tumor à evolução rápida para o óbito. Nesse sentido, as micotoxicoses são análogas às patologias causadas por outros "venenos", tais como pesticidas ou resíduos de metais pesados. Os sintomas apresentados e a gravidade de uma micotoxicose dependem do tipo de micotoxina; quantidade e duração da exposição; via de exposição, idade, sexo e saúde do indivíduo exposto. Além disso, uma variedade de outras circunstâncias (p.ex., desnutrição, abuso de álcool, presença de doença infecciosa, outras exposições às toxinas) pode atuar de forma sinérgica para exacerbar o efeito e a gravidade do envenenamento pela micotoxina.

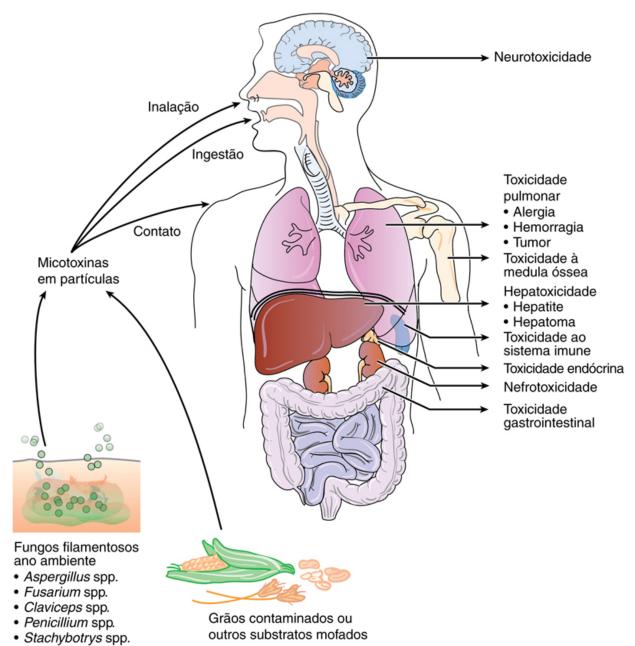


FIGURA 67-1 Variadas exposições e influências das micotoxinas. (Modificada de Richard JL: Mycotoxins and human disease. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone.)

Há mais de 100 fungos toxigênicos e mais de 300 compostos atualmente reconhecidos como micotoxinas. O número de pessoas afetadas por micotoxicoses, contudo, é desconhecido. A maioria das micotoxicoses resulta da ingestão de alimentos contaminados. A ocorrência de micotoxinas nos alimentos é mais comum devido à contaminação do material na précolheita, por fungos toxigênicos que são patógenos de plantas. Além disso, os grãos armazenados podem ser danificados por insetos ou umidade, proporcionando uma porta de entrada aos fungos toxigênicos presentes no ambiente de armazenamento. As micotoxicoses são mais comuns em países com poucos recursos, onde os métodos de manuseio e estocagem dos alimentos são inadequados, a desnutrição é prevalente, e existem poucos regulamentos para proteger as populações expostas.

Algumas micotoxinas são dermonecróticas, e o contato cutâneo ou de mucosa com os substratos contaminados por fungos pode resultar em doença. Dessa maneira, a inalação de toxinas transportadas por esporos também constitui uma forma importante de exposição. Além da terapia de suporte, não há quase nenhum tratamento para a exposição à micotoxina. Felizmente, as micotoxicoses não são transmissíveis de pessoa a pessoa.

Entre os patógenos fúngicos de vegetais, a produção de micotoxinas desempenha um papel na causa ou na exacerbação da doença na planta. Embora possam ser venenosas aos humanos, e algumas tenham propriedades imunossupressoras potentes, há pouca evidência de que as micotoxinas aumentem a capacidade dos fungos em crescer e causar doença em hospedeiros vertebrados. Os fungos, tais como *Aspergillus fumigatus*, que são importantes patógenos oportunistas e capazes de produzir gliotoxinas (inibidoras da proliferação e ativação das células T), geralmente não produzem a toxina em quantidades significativas durante o curso da doença humana, para ter um efeito no processo patológico. Enquanto um fungo oportunista deve ser capaz de crescer na temperatura corpórea humana (37°C) para causar doença, a temperatura ótima para a biossíntese da maioria das micotoxinas é bastante inferior (20°C a 30°C). Por essas e outras razões, a

importância da exposição à micotoxina durante o curso da infecção micótica com um fungo toxigênico é totalmente desconhecida.

No restante deste capítulo, discutiremos micotoxinas que têm sido implicadas em doenças humanas, assim como os metabólitos produzidos por fungos filamentosos que podem estar associados a alimentos humanos ou aos ambientes do cotidiano/trabalho. Ainda que o envenenamento por cogumelos seja uma forma de micotoxicose, ele não será discutido neste capítulo. Uma lista de micotoxicoses, em que há evidência considerável de envolvimento de uma micotoxina específica, é fornecida na Tabela 67-1. Deve-se notar que esta lista destina-se a ser representativa e não totalmente inclusiva.



Tabela 67-1

Doenças Relacionadas às Micotoxinas que Supostamente Afetam Humanos, Baseadas em Dados Analíticos ou Epidemiológicos

Doença	Toxina	Substrato	Fungo	Apresentação Clínica
Akakabi-byo (doença do fungo filamentoso vermelho)	Metabólitos de <i>Fusarium</i>	Trigo, cevada, aveia, arroz	Fusarium spp.	Cefaleia, vômito, diarreia
Aleucia tóxica alimentar (ATA)	Tricotecenos (toxina T-2, diacetoxiscirpenol [DAS])	Grãos de cereais (pão tóxico)	Fusarium spp.	Vômitos, diarreia, angina, inflamação da pele
Nefropatia endêmica dos Balcãs (NEB)	Ocratoxina	Grãos de cereais	Aspergillus spp. Penicillium spp.	Nefrite crônica
Beribéri cardíaco	Citreoviridina	Arroz	Penicillium spp.	Palpitações, vômito, mania, insuficiência respiratória
Ergotismo (gangrenoso e convulsivo)	Alcaloides do esporão do centeio (<i>ergot</i>)	Centeio, grãos de cereais	Claviceps purpurea, Claviceps fusiformis	Gangrenoso: vasoconstrição, edema, prurido e necrose das extremidades Convulsivo: entorpecimento, formigamento, prurido, câimbras, convulsões, alucinações
Câncer esofágico	Fumonisinas	Milho	Fusarium moniliforme	Disfagia, dor, hemorragia
Hepatite e câncer hepático	Aflatoxinas	Grãos de cereais, amendoim	Aspergillus flavus A. parasiticus	Hepatite aguda e crônica, insuficiência hepática
Envenenamento Kodua	Ácido cipropiazônico	Painço	Penicillium spp. Aspergillus spp.	Sonolência, tremores, tontura
Envenenamento por cana-de-açúcar mofada	Ácido 3- nitropropiônico	Cana-de-açúcar	Arthrinium spp.	Distonia, convulsões, espasmos do carpo das mãos e pés, coma
Doença do Onyalai	Metabólitos de <i>Fusarium</i>	Painço	Fusarium spp.	Trombocitopenia, púrpura
Estaquibotriotoxicose	Tricotecenos (toxinas T-2, DAS)	Feno, grãos de cereais, forragem (contato com a pele, poeira do feno inalada)	Stachybotrys, Fusarium, Myrothecium, Trichoderma, Cephalosporium spp.	Tremores, perda da visão, dermatonecrose, sangramento gastrointestinal (cavalos e gado), inflamação nasal, dermatite, dor de cabeça, fadiga, sintomas respiratórios (humanos), hemorragia pulmonar idiopática da infância (?)
Doença do arroz amarelo	Citrinina	Trigo, aveia, cevada, arroz	Penicillium spp. Aspergillus spp.	Nefropatia

Dados de Kuhn DM, Ghannoum MA: Indoor mold, toxigenic fungi, and Stachybotrys chartarum: infectious disease perspective, *Clin Microbiol Rev* 16:144–172, 2003; Smith M, McGinnis MR: Mycotoxins and their effect on humans. In Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, editors: *Clinical mycology*, ed 2, New York, 2009, Churchill Livingstone; e Bennett JW, Klich M: Mycotoxins, *Clin Microbiol Rev* 16:497–516, 2003.

Aflatoxinas

As aflatoxinas (Caso Clínico 67-1) são produzidas sobretudo por Aspergillus flavus e Aspergillus parasiticus, mas muitas outras espécies de Aspergillus também produzem aflatoxinas. A. flavus é a espécie produtora de aflatoxina mais comum encontrada na agricultura e pode produzir até 10⁶ mg/kg. Os produtos mais frequentemente afetados nos Estados Unidos são milho, sementes de algodão, amendoim e certas nozes. A aflatoxina B1 é o carcinógeno natural mais potente conhecido

e é a principal aflatoxina produzida por cepas toxigênicas; no entanto, existe mais de uma dúzia de outras aflatoxinas que têm sido descritas.



Caso Clínico 67-1 Aflatoxicose Aguda

Nyikal et al. (MMWR Morb Mortal Wkly Rep 53:790-793, 2004) descreveram um surto de envenenamento por aflatoxina no Quênia. Durante os meses de janeiro a junho de 2004, o Ministério da Saúde do Quênia (MOH) e colaboradores identificaram 317 casos de insuficiência hepática aguda, na região oriental do Quênia: 125 casos foram de pessoas que morreram durante a doença. Sete pacientes tiveram amostras de soro analisadas pelo Kenya Medical Research Institute, e todas foram negativas para os vírus conhecidos mais comuns causadores de doenças hepáticas no Quênia. Em função de surtos de aflatoxicose que ocorreram previamente naquela região geográfica, o MOH suspeitou que o elevado número de pacientes com insuficiência hepática aguda, algo incomum, pudesse ter adquirido aflatoxicose por se alimentar com milho contaminado. Funcionários de Saúde Pública coletaram amostras de milho da área afetada e detectaram concentrações de aflatoxina B1 tão altas quanto 4.400 ppb (partes por bilhão), que eram 220 vezes maiores que o limite de 20 ppb sugerido pelas autoridades do Quênia para alimentos. Um estudo de caso-controle verificou que as sementes de milho cultivado nas casas (insuficiência hepática aguda) tiveram concentrações mais elevadas de aflatoxinas que as sementes das casas do grupo-controle. As concentrações de aflatoxina no milho, soro e os títulos positivos de antígenos de superfície do vírus da hepatite B foram todos associados independentemente do caso. Apesar de surtos de aflatoxicose terem ocorrido periodicamente na África e Ásia, este resultou em um grande número de casos fatais documentados. Para prevenir surtos de aflatoxina futuros, é necessário explorar intervenções da saúde pública que promovam efetivo controle de produção, estocagem e processamento de cultivos familiares e comerciais do milho.

A aflatoxina está associada à toxicidade e à carcinogenicidade em populações humanas e animais. A aflatoxicose aguda resulta em morte, ao passo que a aflatoxicose crônica resulta em alterações patológicas mais prolongadas, incluindo câncer e imunossupressão. O fígado é o principal órgão-alvo, e o dano hepático tem sido documentado em roedores, aves domésticas e primatas não humanos, após a ingestão de aflatoxina B1. A aflatoxicose aguda tem se manifestado em humanos como uma hepatite aguda. Na Índia, em 1974, ocorreu um surto de hepatite no qual 100 pessoas morreram após o consumo de milho altamente contaminado com aflatoxina. A aflatoxina B1 foi detectada em alta concentração nos fígados das pessoas que evoluíram para óbito.

Há hipóteses de que o *kwashiorkor* (pelagra infantil), uma doença grave da desnutrição, e a síndrome de Reye, caracterizada por encefalopatia e degeneração gordurosa de vísceras, representem formas de aflatoxicose pediátrica. Embora as aflatoxinas sejam encontradas nos fígados de crianças com *kwashiorkor* e de pacientes com síndrome de Reye, uma forte relação de causa e efeito entre a exposição à aflatoxina e estes estados patológicos não foi estabelecida.

A exposição crônica em níveis baixos às aflatoxinas na dieta é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de **carcinoma hepatocelular**. Tal exposição mostrou produzir, experimentalmente, câncer em muitas espécies animais. O carcinoma hepatocelular é uma das principais causas de mortalidade por câncer na Ásia e África, e muitas investigações epidemiológicas têm demonstrado que a ingestão aumentada de aflatoxina se correlaciona com risco aumentado.

O principal modo de exposição humana às aflatoxinas é o consumo de alimentos contaminados, tais como amendoins e grãos de cereais. As aflatoxinas podem ser aerossolizadas e têm sido detectadas no ar e na poeira próximo a fontes agrícolas. A aflatoxina é um carcinógeno pulmonar em animais de experimentação; contudo, a evidência de que a exposição a ela pelo ar conduz ao câncer em humanos é geralmente fraca.

O mecanismo de carcinogênese induzido pela aflatoxina parece envolver a promoção ou progressão do tumor. Há evidências de que ela está envolvida na ativação de proto-oncogenes (*c-MYC*, *c-Ha-RAS*, *Ki-RAS* e *N-RAS*) e que também pode causar mutações no gene supressor de tumor *TP53*. A exposição à aflatoxina e mutações do *TP53* têm sido fortemente associadas em estudos epidemiológicos na África e na China. Especificamente, a exposição à aflatoxina tem sido ligada à mutação do *TP53*, segundo a qual ocorre uma transversão G para T no códon 249. Este tipo de mutação é considerado como o primeiro exemplo de um biomarcador "carcinógeno específico" que permanece fixado no tecido humano. Esse biomarcador é utilizado em estudos epidemiológicos para estabelecer a ligação entre aflatoxinas e o câncer hepático e também para mostrar que cofatores, tais como infecção pelo vírus da hepatite B, aumentam substancialmente o risco de câncer hepatocelular.

A exposição significativa à aflatoxina é incomum entre aqueles que vivem em países desenvolvidos, onde quantidades suficientes de alimentos estão disponíveis, e existe regulamentação para monitorar o nível de aflatoxina nos mesmos. Notavelmente, as taxas de incidência de câncer hepático são 2 a 10 vezes maiores nos países em desenvolvimento que nos países com poucos recursos. Nos países onde as ofertas de alimentos são limitadas e as pessoas estão passando fome, ou onde os regulamentos são inexistentes ou não rigorosos, pode ocorrer ingestão rotineira de aflatoxina.

Citrinina

A citrinina é produzida por muitas espécies de *Penicillium* e *Aspergillus*, incluindo cepas utilizadas para a produção de queijos (*P. camemberti*) e saquês (*A. oryzae*). A citrinina atua como uma potente nefrotoxina em todas as espécies animais

testadas e tem sido associada à doença do arroz amarelo no Japão (Tabela 67-1). Ela pode atuar sinergisticamente com outra nefrotoxina, a ocratoxina A. A citrinina está associada regularmente a alimentos humanos, como trigo, aveia, centeio, milho, cevada e arroz; contudo, sua significância como causa de doença humana é desconhecida.

Alcaloides do Ergot

Os alcaloides do *ergot* ou esporão de centeio constituem uma família de compostos derivados de um sistema de anéis de ergolina tetracíclico. O ácido lisérgico é uma estrutura comum a todos os alcaloides do esporão do centeio, e o alucinógeno dietilamina do ácido lisérgico (LSD) foi descoberto como resultado de pesquisa com estes compostos.

As misturas desses alcaloides são produzidas dentro dos esclerócios, ou "esporões do centeio", de um patógeno comum de gramíneas, do gênero *Claviceps*. Os esporões de centeio são massas endurecidas de hifas fúngicas (esclerócios) que são formadas quando o fungo invade as pequenas flores e substitui o grão do trigo, cevada ou centeio. Os esporões do centeio são ingeridos quando o grão contaminado é utilizado para fazer pães ou em cereais. As duas formas de ergotismo, convulsiva e gangrenosa (Tabela 67-1), parecem ser devidas a diferentes modos de ação dos vários alcaloides produzidos pelas diferentes espécies de *Claviceps*. A forma gangrenosa, caracterizada por vasoconstrição periférica e necrose das extremidades distais, é associada principalmente à ingestão de trigo e centeio contaminados com *Claviceps purpurea* contendo alcaloides do grupo das ergotaminas. Além do infarto e da necrose tecidual, a forma gangrenosa do ergotismo é associada a edema, prurido e sensibilidade variando desde formigamento até grave dor muscular.

O ergotismo convulsivante tem sido associado à ingestão de painço contaminado por *Claviceps fusiformis*. O ergotismo, ou convulsivo, é marcado por espasmos musculares, convulsões e alucinações. O esporão do centeio do painço implicado em um surto de ergotismo convulsivo na Índia, em 1974, continha alcaloides do grupo clavina.

Aparentemente, as diferentes espécies de *Claviceps* produzem diferentes alcaloides, embora seja provável que o substrato também desempenhe um papel na composição dos metabólitos secundários. Ainda que métodos modernos de limpeza dos grãos tenham eliminado o ergotismo como uma doença humana, ele ainda é um problema veterinário importante. Bovinos, suínos, ovinos e aves são os animais de maior risco. Os sintomas do ergotismo entre esses animais incluem gangrena, abortamento, convulsões e ataxia.

Fumonisinas

As fumonisinas são produzidas por muitas espécies de *Fusarium*. A principal espécie de importância econômica é *F. moniliforme* (*F. verticillioides*), um patógeno do milho. As fumonisinas, principalmente a fumonisina B1, interferem no metabolismo dos esfingolipídios e causam leucoencefalomalácia (grave doença necrotizante do cérebro) em cavalos, edema pulmonar e hidrotórax em suínos, e efeitos hepatotóxicos e carcinogênicos no fígado de ratos. A fumonisina B1 tem sido associada a uma maior incidência de câncer esofágico em pessoas que vivem na África do Sul, China e Itália. Ela pode ser isolada em altas concentrações no fubá e em grãos de milho. Embora essa evidência seja intrigante, vários fatores, incluindo outras micotoxinas, têm sido implicados na etiologia do câncer esofágico humano.

Intoxicação aguda com fumonisina B1 tem sido observada na Índia, onde o consumo de pão sem fermento feito de milho mofado causou dor abdominal e diarreia transitória. Também tem sido demonstrado que as fumonisinas causam defeitos no tubo neural de animais de experimentação e podem ter um papel em casos humanos. As fumonisinas são classificadas como carcinógenos do grupo 2B (provavelmente carcinogênico) pela International Agency for Research on Cancer.

Ocratoxina

A ocratoxina pertence a um grupo de metabólitos secundários produzidos por espécies de *Aspergillus e Penicillium* encontradas em cereais, café, pão e alimentos de origem animal (p.ex., porco). Ocratoxina A (OA) é a substância mais comum e mais tóxica em sua classe. A OA é nefrotóxica, teratogênica e carcinogênica em todos os animais testados. Ela tem sido implicada em nefropatia suína, assim como em tumores do trato urinário, e pode causar respostas colinérgicas, tais como broncospasmos, vasodilatação e contração da musculatura lisa.

A ocratoxina tem sido ligada a uma doença conhecida como **nefropatia endêmica dos Bálcãs (NEB)**, uma nefrite progressiva crônica observada em populações que vivem em áreas às margens do rio Danúbio em partes da Romêmia, Búlgária e antiga Iugoslávia. Indivíduos com NEB também sofrem de uma alta frequência de tumores renais. A contaminação de alimentos pela ocratoxina e sua presença no soro de humanos se mostraram mais comuns em famílias com NEB e naquelas com tumores do trato urinário que em famílias não afetadas. Apesar dessa evidência, outros fatores (p.ex., genéticos, metais pesados, possíveis agentes infecciosos ocultos) podem também contribuir para essa doença. Apesar de muitas evidências para a causa da NEB levarem em direção à ocratoxina, estas não são conclusivas. Independentemente, sua nefrotoxicidade aguda, sua ação imunossupressora e efeitos teratogênicos em animais, juntamente com sua propensão de ser transmitida através da cadeia alimentar, merecem interesse em uma investigação adicional.

Tricotecenos

Os tricotecenos (Caso Clínico 67-2) são todos metabólitos tricíclicos sesquiterpenoides produzidos por um número de fungos, incluindo *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* e *Cephalosporium* spp. (Tabela 67-1). Há mais de 148 tricotecenos naturais, dos quais 40 pelo menos são micotoxinas. Os tricotecenos atuam por inibição de vários aspectos da síntese proteica nas células eucarióticas. As mais potentes dessas micotoxinas são a toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS), desoxinivalenol (DON ou vomitoxina) e fusarenona-X. Essas micotoxinas são comumente encontradas como contaminantes de alimentos e rações, e seu consumo pode resultar em hemorragia gastrointestinal e vômitos; o contato direto causa dermatite.



Caso Clínico 67-2 Stachybotrys e Hemorragia Pulmonar Idiopática Aguda

Colin et al. (MMWR Morb Mortal Wkly Rep 53:817–820, 2004) descreveram uma pesquisa da hemorragia pulmonar idiopática aguda (HPIA) em crianças em Massachusetts. Entre 1993 e 1996, uma pesquisa de casos de HPIA entre lactentes em Cleveland, Ohio, sugeriu uma associação entre HPIA e o sexo masculino, exposição a fungos filamentosos (notadamente Stachybotrys chartarum), exposição à fumaça de tabaco e falta de aleitamento materno. Entretanto, as revisões dessa pesquisa pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) identificaram falhas na metodologia e determinaram que nenhuma associação entre HPIA e exposição aos fungos filamentosos tinha sido estabelecida. Recomendou-se que o CDC colaborasse com o estado e os oficiais locais de saúde pública para investigar os casos futuros de HPIA, em particular quando os grupos são identificados. Entre dezembro de 2002 e junho de 2003, quatro casos de HPIA entre lactentes foram relatados em Boston, Massachusetts. Em um período de 4 meses, três dessas crianças eram pacientes no mesmo hospital que tipicamente tem um caso de HPIA entre lactentes por ano. O CDC, em colaboração com o Departamento de Saúde Pública de Massachusetts, investigou este grupo e determinou que dois dos lactentes tiveram a doença de von Willebrand (vWD), uma doença hemorrágica herdada, e teve resultados limítrofes no teste para vWD. Os achados sugerem que os lactentes com HPIA tinham uma base adquirida ou suscetibilidade genética que os predispuseram à hemorragia pulmonar.

Todos os lactentes neste grupo também foram expostos a certos fatores ambientais que podem ter afetado seus pulmões, incluindo fumaça de tabaco, material particulado (p.ex., poeira de construção) e fungos filamentosos. *Cladosporium* e *Penicillium*, os fungos filamentosos mais comumente identificados nas casas, tipicamente são os gêneros mais abundantes no ar interior. O total de esporos fúngicos, contados em duas das residências, estava em concentrações que têm sido associadas a risco aumentado para doenças do trato respiratório inferior, e todas as quatro crianças foram tratadas presuntivamente para infecções respiratórias antes dos episódios hemorrágicos. Apenas sete esporos de *S. chartarum* foram detectados em uma das residências e um único esporo foi achado em outra. Embora a significância absoluta das contagens de esporos não seja conhecida, os efeitos tóxicos e outros efeitos sobre a saúde não mediados por imunoglobulina (Ig)E que hipoteticamente ocorrem com a exposição a *S. chartarum* não parecem ter contribuído para esses casos de HPIA.

A chamada **intoxicação por grãos mofados** de humanos e animais é bem documentada no Japão. Tais intoxicações têm sido atribuídas às micotoxinas de *Fusarium*. Acredita-se que a toxicose *Akakabi-byo*, ou doença do fungo filamentoso vermelho, seja causada pela ingestão de grãos contaminados com *Fusarium graminearum* (Tabela 67-1).

A toxina T-2, DAS, e DON são os tricotecenos de *Fusarium* mais amplamente estudados. Os sintomas produzidos por tais agentes incluem efeitos em quase todo o sistema dos organismos vertebrados. A toxina T-2 e a DAS parecem ser as mais potentes, e ambas exibem atividade citotóxica e imunossupressora. Elas causam uma ampla variedade de sintomas gastrointestinais, dermatológicos e neurológicos e também diminuem a resistência do hospedeiro à infecção por vários micro-organismos. DON é um contaminante comum de grãos utilizados em rações animais. Quando ingerido em doses altas, causa vômitos e diarreia; em doses baixas, os animais de fazenda exibem perda de peso e recusam alimento.

Tanto a toxina T-2 como a DAS têm sido implicadas em uma doença humana conhecida como **aleucia tóxica alimentar** (ATA). O surto mais importante de ATA ocorreu na Rússia durante a Segunda Guerra Mundial. Milhares de pessoas adoeceram após comerem grãos armazenados durante o inverno, contaminados com *Fusarium sporotrichioides* e *Fusarium poae*. A doença foi caracterizada por muitos estágios, com ulceração inicial da mucosa oral e gastroenterite seguida de pancitopenia, sangramento do nariz, boca e vagina, hipotensão e vertigem. O alto índice de mortalidade aguda foi aumentado pelas infecções bacterianas oportunistas durante os estágios neutropênicos finais da doença. Apesar de as duas espécies de *Fusarium* que foram isoladas dos grãos mofados mostrarem subsequentemente a capacidade de produzir a toxina T-2 e outros tricotecenos, nenhuma tentativa foi feita para documentar a presença dessas micotoxinas no grão ou na população afetada. Quase todos os sinais de ATA têm sido documentados em animais que receberam a toxina T-2; no entanto, a associação entre a toxina e a doença humana permanece meramente especulativa.

A estaquibotriotoxicose é uma doença bem descrita entre cavalos e gado que consomem palha e feno embolorados e contaminados com *Stachybotrys*. A estaquibotriotoxicose equina é caracterizada por sinais neurológicos agudos como tremores, incoordenação e perda da visão, além de manifestações crônicas como dermatonecrose, leucopenia e sangramento gastrointestinal. Humanos que manusearam feno com crescimento fúngico exibiram dermatite de contato, assim como inflamação de mucosa, febre, dor torácica e leucopenia secundária à inalação da poeira do feno. Tricotecenos macrocíclicos foram isolados do feno contaminado.

Dados esses achados, e como *Stachybotrys* cresce bem em materiais de construção úmidos (p.ex., telhas, placas de fibra de madeira, poeira de ductos de ar-condicionado), as toxinas desse fungo se tornaram suspeitas de causar doenças em humanos que moram ou trabalham em edifícios contaminados com *Stachybotrys*. As queixas de irritação pulmonar, dores de cabeça, fadiga, mal-estar e diarreia têm sido registradas por residentes e trabalhadores em edifícios (a chamada síndrome do edifício doente [SBS, do inglês, *sick building syndrome*]) contaminados com *Stachybotrys chartarum*. *Stachybotrys* também tem sido associado a **hemorragia pulmonar idiopática** dos lactentes; contudo, uma relação de causa e efeito não foi comprovada. A avaliação crítica da literatura disponível não encontrou evidência sustentável de que graves doenças humanas sejam causadas pela exposição a *Stachybotrys* no ambiente humano contemporâneo.

Outras Micotoxinas e Supostas Micotoxicoses

Devido à ampla variedade de fungos filamentosos ambientais que se mostraram capazes de produzir micotoxinas, não é de se surpreender que exista uma vasta literatura que descreva o papel potencial desses agentes em doenças humanas e animais. Infelizmente, grande parte dessa literatura é bastante falha, e a revisão crítica quase sempre encontra falta de evidência rigorosa de relação de causa e efeito entre as micotoxinas e doença humana.

O ácido ciclopiazônico é um ácido indol tetrâmico que é um inibidor específico da ATPase dependente de cálcio e induz alterações do transporte de íons através das membranas celulares. É produzido por muitas espécies de *Penicillium* e *Aspergillus*, inclusive *A. flavus*. O consumo de painço altamente contaminado com fungos filamentosos e contendo altos níveis de ácido ciclopiazônico produziu uma condição conhecida como **envenenamento Kodua**, caracterizado por vertigem e náuseas (Tabela 67-1).

O beribéri cardíaco, uma condição descoberta no Japão e em outros países asiáticos no início do século XX, tem sido associado às toxinas do arroz amarelo, citreoviridina, citrinina e compostos relacionados. Essa doença é caracterizada por palpitações, náusea, vômito, desconforto respiratório, hipotensão e alterações de comportamento, levando à insuficiência respiratória e à morte. Os sintomas neurológicos e a insuficiência respiratória têm sido reproduzidos em animais que receberam citreoviridina.

Supõe-se que várias doenças raras e obscuras sejam micotoxicoses, muitas vezes, com evidência objetiva mínima. Estas incluem a doença de Kashin-Beck na Rússia, a doença de Onyalai na África e a doença da cana-de-açúcar mofada na China (Tabela 67-1).

É difícil provar que uma doença seja uma micotoxicose. Mesmo fungos filamentosos toxigênicos conhecidos podem estar presentes no alimento ou no ambiente e não produzirem toxinas. O simples isolamento do fungo filamentoso de culturas de um determinado substrato não é o mesmo que a detecção de uma toxina específica. Provavelmente, mesmo quando as micotoxinas são detectadas, é difícil provar conclusivamente que são a causa de estados patológicos agudos e crônicos específicos. Independentemente, existem outros interesses com respeito à relação entre as micotoxinas e a doença humana. Os exemplos de certas associações doença-fungo são razoavelmente bem documentados na literatura, incluindo a ATA do *Fusarium*, a doença hepática do *Aspergillus* e o ergotismo das *Claviceps* spp. Com exceção desses exemplos, a evidência é tênue. É provável que as micotoxinas se afirmem como um perigo importante à saúde de humanos e animais, mas a extensão deve ser determinada por estudos clínicos e laboratoriais rigorosamente delineados.

Referências Bibliográficas

Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. Clin Microbial Rev. 2003;16:497-516.

Isham NC, et al. Mycotoxins. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Kuhn DM, Ghannoum MA. Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16:144–172.

Smith M, McGinnis MR. Mycotoxins and their effect on humans. In: Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. *Clinical mycology*. ed 2 New York: Churchill Livingstone; 2009.

van der Fels-Klerx HJ, Olesen JE, Naustvoll LJ, et al. Climate change impacts on natural toxins in food production systems, exemplified by deoxynivalenol in wheat and diarrhetic shellfish toxins. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2012;29:1647–1659.

Woloshuk CP, Shim WB. Aflatoxins, fumonisins, and trichothecenes: a convergence of knowledge. FEMS Microbiol Rev. 2013;37:94–109.

SEÇÃO 7

Parasitologia

	Capítulo 68:	Classificação,	Estrutura e Re	plicaçã	ão Parasitária
--	--------------	----------------	----------------	---------	----------------

Capítulo 69: Patogênese das Doenças Parasitárias

Capítulo 70: O Papel dos Parasitas na Doença

Capítulo 71: Diagnóstico Laboratorial da Doença Parasitária

Capítulo 72: Agentes Antiparasitários

Capítulo 73: Protozoários Intestinais e Urogenitais

Capítulo 74: Protozoários do Sangue e dos Tecidos

Capítulo 75: Nematoides

Capítulo 76: Trematódeos

Capítulo 77: Cestoides

Capítulo 78: Artrópodes

Classificação, Estrutura e Replicação Parasitária

Este capítulo apresenta uma introdução à classificação e fisiologia parasitária. Esta breve revisão tem a intenção de aprimorar a compreensão do leitor sobre as inter-relações entre os organismos parasitários, epidemiologia e transmissão de doença, processos específicos de doença envolvidos e possibilidades para prevenção e controle das enfermidades. Deliberadamente, nós tentamos simplificar a taxonomia pela utilização desta para referenciar as principais divisões envolvidas na parasitologia médica: protozoários intestinais e urogenitais, protozoários sanguíneos e teciduais, nematoides, trematódeos, cestoides e artrópodes.

Importância dos Parasitas

A parasitologia médica compreende o estudo de animais invertebrados capazes de causar doença em seres humanos e outros animais. Embora as doenças parasitárias sejam frequentemente consideradas "tropicais" e, portanto, de pouca importância para médicos que atuam nos países desenvolvidos e de clima mais temperado, é evidente que o mundo se tornou um lugar muito pequeno e que o conhecimento dos médicos acerca das doenças parasitárias é essencial. O impacto global das infecções parasitárias e o número de mortes associadas a parasitas são estarrecedores e devem ser motivo de preocupação para todos os profissionais de saúde (Tabela 68-1). Cada vez mais, turistas, missionários, voluntários das Forças de Paz e outros estão visitando e trabalhando por longos períodos em regiões exóticas e remotas do mundo. Portanto, essas pessoas encontram-se sob o risco de infecções causadas por parasitas ou outros agentes que são raros nos Estados Unidos ou em outros países mais desenvolvidos. Outra fonte de pacientes infectados provém do número cada vez maior de refugiados de países em desenvolvimento. Finalmente, os problemas de imunossupressão profunda que acompanham avanços na terapia médica (p.ex., transplante de órgãos), assim como aqueles associados a pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), colocam um número crescente de indivíduos sob o risco de desenvolvimento de infecções causadas por certos parasitas. Dadas essas considerações, clínicos e técnicos de laboratório devem estar atentos à possibilidade da doença parasitária e ser treinados para solicitar, realizar e interpretar os testes laboratoriais apropriados para auxiliar no diagnóstico e terapia.



Tabela 68-1

Estimativa do Impacto Mundial das Infecções Parasitárias

Infecção	Número Estimado de Infectados	Mortes (por ano)*
Malária	> 500 milhões	2,5 milhões
Filaríase linfática	128 milhões	0
Leishmaniose	2 milhões	59.000
Ancilostomose	>1 bilhão	_
Esquistossomose	200 milhões	500.000 a 1 milhão
Tricuríase	900 milhões	_
Tripanossomíase africana	100.000 novos casos por ano	50.000
Ascaríase	1,3 bilhão	60.000
Oncocercíase	17,7 milhões (270.000 cegos)	0
Doença de Chagas	16–18 milhões	50.000

Adaptado de Edwards G, Krishna S: Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of parasite infections, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 23:233–242, 2004; Hoetz PJ, Molyneux DH, Fenwick A, et al: Control of neglected tropical diseases, *N Engl J Med* 357:1018–1027, 2007; e John DT, Petri WA Jr. *Markell and Voge's medical parasitology*, ed 9, St Louis, 2006, Saunders.

^{*} Dados de mortalidade incluídos quando disponíveis.

Classificação e Estrutura

Os parasitas de seres humanos são classificados dentro de três reinos eucarióticos: Protozoa, Animalia (Metazoa) e Stramenopila (anteriormente denominando Chromista) (Tabela 68-2). Tradicionalmente, a classificação parasitária levou em consideração a morfologia de estruturas intracitoplasmáticas, como o núcleo, o tipo de organelas de locomoção e o modo de reprodução (Tabela 68-3). Mais recentemente, o novo consenso taxonômico tem sido baseado principalmente nos avanços do nosso entendimento da bioquímica e biologia molecular de organismos inferiores (p.ex., Protozoa e Stramenopila). Comparações da subunidade menor do RNA ribossomal (SSU rRNA) e sequências de proteínas tornaram possível o arranjo de organismos dentro de grupos baseados nas distâncias evolutivas. Além disso, a identificação de certas organelas encontradas em células eucarióticas, com suas origens procarióticas, tornou possível organizar todos os organismos vivos em um esquema taxonômico realístico e evolutivamente sólido. Organismos pertencentes aos reinos Protozoa e Stramenopila são animais nos quais as funções vitais ocorrem em uma única célula. Os membros do reino Animalia, também conhecidos como **metazoários**, são animais multicelulares nos quais as funções vitais ocorrem em estruturas celulares organizadas como sistemas de órgãos e tecidos.



Tabela 68-2

Parasitas de Importância Médica

Reino	Filo	Organismos
Protozoa	Metamonada (flagelados)	Giardia, Chilomastix
	Parabasalia (flagelados)	Dientamoeba, Trichomonas
	Percolozoa (flagelados)	Naegleria
	Euglenozoa (flagelados)	Leishmania, Trypanosoma
	Amoebozoa (ameba)	Acanthamoeba, Balamuthia, Entamoeba
	Apicomplexa (esporozoários)	Cryptosporidium, Cyclospora, Cystoisospora, Toxoplasma, Babesia, Plasmodium
	Ciliophora (ciliados)	Balantidium coli
Stramenopila	Bigyra	Blastocystis spp.
Animalia	Nematelmintos (Nematoda, nematoides)	Trichinella, Trichuris, Ancylostoma, Necator, Ascaris, Dracunculus, Enterobius, Strongyloides
	Platelmintos	Trematódeos, cestoides
	Arthropoda	Crustáceos, aranhas, insetos, hemípteras

Características Biológicas, Morfológicas e Fisiológicas dos Parasitas Patogênicos

Classe do Organismo	Morfologia	Reprodução	Organelas de Locomoção	Respiração	Nutrição
Protozoa					
Ameba	Unicelular; formas de cisto e trofozoíto	Fissão binária	Pseudópodes	Anaeróbios facultativos	Assimilação por pinocitose ou fagocitose
Flagelados	Unicelular; formas de cisto e trofozoíto; possivelmente intracelular	Fissão binária	Flagelos	Anaeróbios facultativos	Simples difusão ou ingestão via citóstoma, pinocitose ou fagocitose
Ciliados	Unicelular; cistos e trofozoítos	Fissão binária ou conjugação	Cílios	Anaeróbios facultativos	Ingestão via citóstoma, vacúolo digestivo
Sporozoa	Unicelular, frequentemente intracelular; várias formas, incluindo trofozoítos, esporozoítos, cistos (oocistos), gametas	Esquizogonia e esporogonia	Nenhuma	Anaeróbios facultativos	Simples difusão
Helmintos					
Nematoides	Multicelulares; cilíndricos, lisos, fusiformes, trato alimentar tubular; possibilidade de dentes ou placas para fixação	Sexos separados	Nenhuma organela única; motilidade muscular ativa	Adultos: normalmente anaeróbios; larvas: possivelmente aeróbias	Ingestão ou absorção de fluidos corpóreos, tecidos, ou conteúdo digestivo
Trematódeos	Multicelulares; formato de folha com ventosas orais e ventrais, trato alimentar de fundo cego	Hermafroditas (o grupo dos <i>Schistosoma</i> apresenta sexos separados)	Nenhuma organela única; motilidade direcionada por músculo	Adultos: normalmente anaeróbios	Ingestão ou absorção de fluidos corpóreos, tecidos, ou conteúdo digestivo
Cestoides	Multicelulares; cabeça com corpo segmentado (proglotes); ausência de trato alimentar; cabeça equipada com ganchos e/ou ventosas para fixação	Hermafroditas	Nenhuma organela única; normalmente fixação à mucosa; possível motilidade muscular (proglotes)	Adultos: normalmente anaeróbios	Absorção de nutrientes do intestino
Artrópodes					
Myriapoda	Alongados; muitas pernas; cabeça e troncos distintos; garras venenosas no primeiro segmento	Sexos separados	Pernas	Aeróbios	Carnívoro

Classe do Organismo	Morfologia	Reprodução	Organelas de Locomoção	Respiração	Nutrição
Pentastomida	Vermiformes; cilíndricos ou achatados; duas regiões do corpo distintas; órgãos digestivos e reprodutores; ausência de sistemas circulatório e respiratório	Sexos separados	Motilidade direcionada por músculo	Aeróbios	Ingestão de fluidos corpóreos e tecidos
Crustacea	Carapaça externa rígida; um par de maxilas; cinco pares de pernas birramosas	Sexos separados	Pernas	Aeróbios	Ingestão de fluidos corpóreos e tecido, carnívoros
Chelicerata (Arachnida)	Corpo dividido em cefalotórax e abdome; oito patas e presas venenosas	Sexos separados	Patas	Aeróbios	Carnívora
Insecta	Corpo: cabeça, tórax e abdome; um par de antenas; três pares de apêndices, até dois pares de asas	Sexos separados	Patas, asas	Aeróbios	Ingestão de fluidos e tecidos

Protozoa

Os protozoários são micro-organismos simples que variam em tamanho de 2 a 100 µm. Possuem protoplasma envolto por uma membrana celular e contendo inúmeras organelas, incluindo um núcleo delimitado por membrana, um retículo endoplasmático, grânulos de armazenamento de nutrientes e vacúolos contráteis e digestivos. O núcleo contém cromatina agrupada ou dispersa e um cariossoma central. Órgãos de motilidade variam de simples extrusões citoplasmáticas ou pseudópodes a estruturas mais complexas, como flagelos ou cílios. O reino Protozoa compreende 13 subgrupos principais, ou filos, 7 dos quais têm importância na parasitologia médica.

Os Flagelados: Metamonada, Parabasalia, Percolozoa e Euglenozoa

Previamente agrupados no antigo subfilo Mastigophora, os flagelados são agora distribuídos em quatro filos: Metamonada, Parabasalia, Percolozoa e Euglenozoa. Os flagelados movimentam-se por meio de seus flagelos, que se assemelham a chicotes. O número e a posição dos flagelos variam grandemente nas diferentes espécies. Além disso, estruturas especializadas associadas aos flagelos podem produzir uma aparência morfológica característica, que pode ser útil na identificação das espécies.

Amoebozoa

O filo Amoebozoa, englobando as amebas, é equivalente ao antigo subfilo Sarcodina. A locomoção das amebas é realizada pela extrusão de pseudópodes ("falsos pés"). As amebas são fagocíticas e contêm mitocôndrias com cristas tubulares.

Apicomplexa

Os organismos do filo Apicomplexa são frequentemente referidos como **Sporozoa** ou **Coccidia**. O filo Apicomplexa inclui um grande grupo de protozoários de reprodução sexuada e formadores de esporos, com comparáveis ciclos de vida e morfologias semelhantes ao nível da microscopia eletrônica. Esses organismos possuem um sistema de organelas produtor de substâncias na extremidade apical que os auxiliam a penetrar nas células do hospedeiro e, dessa forma, tornam-se parasitas intracelulares.

Ciliophora

O filo Ciliophora consiste em ciliados, incluindo uma grande variedade de espécies de vida livre e simbióticas. A locomoção dos ciliados envolve o movimento coordenado de fileiras de estruturas semelhantes a fios de cabelo, ou cílios. Os cílios são estruturalmente semelhantes aos flagelos, mas, em geral, mais curtos e numerosos. Alguns ciliados são multinucleados. O único ciliado parasita de seres humanos, *Balantidium coli*, contém dois núcleos: um macronúcleo grande e um micronúcleo pequeno.

Stramenopila (anteriormente Chromista)

O reino Stramenopila foi criado para acomodar diversos organismos semelhantes a plantas, na maioria algas, que originalmente eram quimeras entre hospedeiros biflagelados eucarióticos e algas vermelhas simbióticas que perderam seus cloroplastos ao longo da evolução, mas que ainda retêm elementos de seus ancestrais, as algas vermelhas. Apesar de terem previamente migrado entre os reinos Fungi e Protozoa, *Blastocystis* spp. são hoje em dia alocados no reino Stramenopila (filo Bigyra, classe Blastocystea) com base em análises do rRNA 18S e outras evidências moleculares.

Animalia (Metazoa)

O reino Animalia (Metazoa) inclui todos os organismos eucarióticos que não pertencem aos reinos Protozoa, Stramenopila ou Fungi. Este capítulo discute dois amplos grupos de organismos de maior importância: os helmintos ("vermes") e os artrópodes (caranguejos, insetos, carrapatos e outros).

Helmintos

Os helmintos são organismos multicelulares complexos alongados e bilateralmente simétricos. Eles são consideravelmente maiores que os protozoários parasitas e quase sempre são macroscópicos, variando em tamanho de menos de 1 mm a 1 m ou mais. A superfície externa de alguns vermes é recoberta por uma cutícula protetora, a qual é acelular e pode ser lisa ou possuir projeções, espinhos ou tubérculos. A cobertura protetora dos vermes achatados (platelmintos) é denominada **tegumento**. Frequentemente, os helmintos possuem estruturas de fixação elaboradas, como ganchos, ventosas, dentes ou placas. Essas estruturas estão normalmente localizadas na região anterior e podem ser úteis na classificação e identificação dos organismos (Tabela 68-3). Os helmintos tipicamente apresentam sistemas nervoso e excretório primitivos. Alguns apresentam tratos alimentares; entretanto, nenhum apresenta sistema circulatório. Os helmintos são separados em dois filos, os Nematelmintos e os Platelmintos.

Nematelmintos

O filo dos Nematelmintos consiste nos vermes cilíndricos, os quais possuem corpos cilíndricos. O sexo dos nematoides é separado, e esses organismos apresentam um sistema digestivo completo. Os nematelmintos podem ser parasitas intestinais ou infectar o sangue e os tecidos.

Platelmintos

O filo dos Platelmintos consiste nos vermes achatados, os quais apresentam corpos que se assemelham a folhas ou se parecem com segmentos de fita. Os Platelmintos podem ser subsequentemente divididos em trematódeos e cestoides.

Trematodas, ou trematódeos, apresentam corpos com aspecto de folha. A maioria é hermafrodita, com órgãos sexuais masculinos e femininos em um único corpo. O sistema digestivo é incompleto e apenas apresenta tubos em forma de saco. Os ciclos de vida são complexos; caramujos servem como primeiros hospedeiros intermediários, e outros animais ou plantas aquáticas atuam como segundos hospedeiros intermediários.

Cestoides, ou vermes em forma de fita, apresentam o corpo composto de fitas de proglotes ou segmentos. Todos são hermafroditas e não apresentam sistema digestivo, absorvendo nutrientes através das paredes do corpo. Os ciclos de vida de alguns cestoides são simples e diretos, enquanto os de outros são complexos e requerem um ou mais hospedeiros intermediários.

Artrópodes

O filo Arthropoda é o maior grupo de animais no reino Animalia. Os artrópodes são organismos multicelulares complexos, que podem estar diretamente envolvidos em causar processos de doença invasivos ou superficiais (infestação), ou indiretamente como hospedeiros intermediários e vetores de muitos agentes infecciosos, incluindo protozoários e helmintos parasitas (Tabela 68-4). Além disso, o envenenamento por picada e ferroada de artrópodes pode resultar em reações adversas em seres humanos, que variam de reações alérgicas e de hipersensibilidade locais, a grave choque anafilático e morte. Existem cinco grandes categorias de artrópodes.

Transmissão e Distribuição dos Parasitas Patogênicos

Organismo	Forma Infectante	Mecanismo de Dispersão	Distribuição
Protozoários Intestinais			
Entamoeba histolytica	Cisto/trofozoíto	Indireto (fecal-oral) Direto (venéreo)	Mundial
Giardia duodenalis/intestinalis	Cisto	Via fecal-oral	Mundial
Dientamoeba fragilis	Trofozoíto Cisto?	Via fecal-oral	Mundial
Balantidium coli	Cisto	Via fecal-oral	Mundial
Cystoisospora belli	Oocisto	Via fecal-oral	Mundial
Cryptosporidium spp.	Oocisto	Via fecal-oral	Mundial
Protozoários urogenitais	•		
Trichomonas vaginalis	Trofozoíto	Via direta (venérea)	Mundial
Protozoários Sanguíneos	s e Teciduais		
Naegleria e Acanthamoeba spp.	Cisto/trofozoíto	Inoculação direta, inalação	Mundial
Plasmodium spp.	Esporozoíto	Mosquito Anopheles	Áreas tropicais e subtropicais
Babesia spp.	Corpo piriforme	Carrapato ixodídeo	América do Norte, Europa
Toxoplasma gondii	Oocistos e cistos teciduais	Via fecal-oral, carnivorismo	Mundial
Leishmania spp.	Promastigota	Flebotomíneo	Áreas tropicais e subtropicais
Trypanosoma cruzi	Tripomastigota	Inseto reduviídeo	Américas do Norte, Central e do Sul
Trypanosoma brucei	Tripomastigota	Mosca tsé-tsé	África
Nematoides			ı
Enterobius vermicularis	Ovo	Via fecal-oral	Mundial
Ascaris lumbricoides	Ovo	Via fecal-oral	Áreas de saneamento básico precário
Toxocara spp.	Ovo	Via fecal-oral	Mundial
Trichuris trichiura	Ovo	Via fecal-oral	Mundial
Ancylostoma duodenale	Larva filarioide	Penetração direta na pele via solo contaminado	Áreas tropicais e subtropicais
Necator americanus	Larva filarioide	Penetração direta na pele, autoinfecção	Áreas tropicais e subtropicais
Strongyloides stercoralis	Larva filarioide	Penetração direta na pele, autoinfecção	Áreas tropicais e subtropicais
Trichinella spiralis	Larva encistada em tecido	Carnivorismo	Mundial
Wuchereria bancrofti	Larva de terceiro estágio	Mosquito	Áreas tropicais e subtropicais
Brugia malayi	Larva de terceiro estágio	Mosquito	Áreas tropicais e subtropicais
Loa loa	Larva filarioide	Mosca Chrysops	África
Mansonella spp.	Larva de terceiro estágio	Simulídeos ou borrachudos	África, Américas Central e do Sul
Onchocerca volvulus	Larva de terceiro estágio	Simulídeos	África, Américas Central e do Sul
Dracunculus medinensis	Larva de terceiro estágio	Ingestão de <i>Cyclops</i> infectados	África, Ásia
Dirofilaria immitis	Larva de terceiro estágio	Mosquito	Japão, Austrália, Estados Unidos

Organismo Forma Infectante		Mecanismo de Dispersão	Distribuição	
Trematódeos				
Fasciolopsis buski	Metacercária	Ingestão de metacercária encistada em plantas aquáticas	China, Sudeste da Ásia, Índia	
Fasciola hepatica	Metacercária	Metacercária em plantas aquáticas	Mundial	
Opisthorchis (Clonorchis) sinensis	Metacercária	Metacercária encistada em peixes de água doce	China, Japão, Coreia, Vietnã	
Paragonimus westermani	Metacercária	Metacercária encistada em crustáceos de água doce	Ásia, África, Índia, América Latina	
Schistosoma spp.	Cercária	Penetração direta pela pele de cercárias que nadam livremente	África, Ásia, Índia, América Latina	
Cestoides				
g		Ingestão de suíno infectado; ingestão de ovo (cisticercose)	Países que consomem suínos: África, Sudeste da Ásia, China, América Latina	
Taenia saginata	Cisticerco	Ingestão de cisticerco na carne	Mundial	
Diphyllobotrium latum	Espargano	Ingestão de espargano em peixe	Mundial	
Echinococcus granulosus	Ovo embrionado	Ingestão de ovos a partir de caninos infectados	Países que criam ovelhas: Europa, Ásia, África, Austrália, Estados Unidos	
Echinococcus multilocularis	Ovo embrionado	Ingestão de ovos liberados por animais infectados, via fecal-oral	Canadá, Norte dos Estados Unidos, Europa Central	
Hymenolepis nana	Ovo embrionado	Ingestão de ovos, via fecal-oral	Mundial	
Hymenolepis diminuta	Cisticerco	Ingestão de larvas de besouros infectados presentes em grãos contaminados	Mundial	
Dipylidium caninum	Cisticercoide	Ingestão de pulgas infectadas	Mundial	

Myriapoda

Os Myriapoda (anteriormente denominados Chilopoda) consistem em formas terrestres, como as centopeias. Esses organismos têm importância médica devido às suas garras venenosas, as quais podem produzir "picadas" dolorosas.

Pentastomida

Os pentastomídeos, ou vermes em forma de língua, são endoparasitas hematófagos de répteis, aves e mamíferos. Os pentastomídeos adultos são parasitas esbranquiçados, cilíndricos ou achatados, que possuem duas regiões corpóreas distintas: um cefalotórax anterior e um abdome. Os seres humanos podem servir como hospedeiros intermediários para esses parasitas.

Crustacea

Os crustáceos incluem formas aquáticas familiares como os caranguejos, lagostins, camarões e copépodes. Vários estão envolvidos como hospedeiros intermediários nos ciclos de vida de inúmeros helmintos intestinais ou do sangue e tecidos.

Chelicerata

Os Chelicerata (anteriormente denominados Arachnida) consistem em formas terrestres familiares, como os ácaros, carrapatos, aranhas e escorpiões. Diferente dos insetos, esses animais não possuem asas ou antenas, e os adultos apresentam quatro pares de patas, ao contrário dos três pares dos insetos. De importância médica, estão os que atuam como vetores para doenças microbianas (ácaros e carrapatos) ou os animais venenosos que picam (aranhas) ou ferroam (escorpiões).

Insecta

Os Insecta consistem de formas aquáticas e terrestres familiares, como mosquitos, moscas, outros dípteros hematófagos, pulgas, piolhos, vespas e formigas. Asas e antenas estão presentes, e as formas adultas possuem três pares de patas. Muitos insetos que atuam como vetores de doenças microbianas (mosquitos, moscas, piolhos e hemípteras) ou os animais venenosos que ferroam (abelhas, vespas e formigas) são de importância médica.

Fisiologia e Replicação

Protozoa

As necessidades nutricionais dos protozoários parasitas são geralmente simples e requerem a assimilação de nutrientes orgânicos. As amebas, os ameboflagelados e outros protozoários realizam essa assimilação pelo processo mais primitivo de pinocitose ou fagocitose de moléculas solúveis ou particuladas (Tabela 68-3). O material englobado é inserido em vacúolos digestivos. Os flagelados e ciliados na maioria das vezes ingerem nutrientes através de um local ou estrutura definida, o perístoma ou citóstoma. Outros parasitas unicelulares assimilam nutrientes por simples difusão. O conteúdo alimentar ingerido pode ser retido em grânulos intracitoplasmáticos ou em vacúolos. As partículas não digeridas e os resíduos podem ser eliminados da célula pela extrusão do material na superfície celular. A respiração na maioria dos protozoários parasitas é realizada por meio de processos anaeróbios facultativos.

Para garantir a sobrevivência em condições ambientais hostis ou desfavoráveis, muitos protozoários parasitas desenvolvem-se na forma cística, a qual é metabolicamente menos ativa. O cisto é circundado por uma parede celular externa espessa, capaz de proteger o organismo de danos físicos e químicos letais. A forma cística é uma parte integrante do ciclo de vida de muitos protozoários parasitas e facilita a transmissão do organismo de um hospedeiro para outro no ambiente externo (Tabela 68-4). Parasitas que não são capazes de formar cistos dependem da transmissão direta de hospedeiro para hospedeiro ou requerem um artrópode vetor para completar seu ciclo de vida (Tabela 68-4).

Além da formação do cisto, muitos protozoários parasitas desenvolveram mecanismos elaborados para evadir a resposta imune, os quais lhes permitem responder ao ataque do sistema imune do hospedeiro por meio de modificações contínuas dos seus antígenos de superfície, dessa forma garantindo a sobrevivência no hospedeiro. A reprodução entre os protozoários ocorre geralmente por fissão binária simples (merogonia), embora o ciclo de vida de alguns representantes do filo (p.ex., esporozoários) inclua ciclos de múltipla fissão (esquizogonia) alternando com um período de reprodução sexuada (esporogonia ou gametogonia).

Animalia (Metazoa)

Helmintos

As necessidades nutricionais dos helmintos parasitas são supridas pela ingestão ativa de tecido e/ou fluidos do hospedeiro, com resultante destruição tecidual, ou pela absorção passiva dos nutrientes dos fluidos circunjacentes e conteúdos intestinais (Tabela 68-3). A motilidade muscular de muitos helmintos consome considerável energia, e os vermes rapidamente metabolizam carboidratos. Os nutrientes são armazenados na forma de glicogênio, cujo estoque é bastante elevado na maioria dos helmintos. Semelhante à dos protozoários, a respiração dos helmintos é primariamente anaeróbia, embora as larvas possam necessitar de oxigênio.

Uma proporção significativa das necessidades energéticas dos helmintos é dedicada a manter o processo reprodutivo. Muitos vermes são bastante prolíficos, produzindo tanto quanto 200.000 descendentes a cada dia. Em geral, os helmintos parasitas depositam ovos (ovíparos), apesar de poucas espécies poderem parir larvas vivas (vivíparos). As larvas resultantes são sempre morfologicamente distintas dos parasitas adultos e devem passar por diversos estágios de desenvolvimento ou mudas antes de atingir o estágio adulto.

A principal barreira protetora para a maioria dos helmintos é a camada externa resistente (cutícula ou tegumento). Os vermes também podem secretar enzimas que destroem as células do hospedeiro e neutralizam os mecanismos de defesas imunológicas e celulares. Semelhante aos protozoários parasitas, alguns helmintos têm a habilidade de alterar as propriedades antigênicas de suas superfícies externas e, portanto, evadir-se à resposta imune do hospedeiro. Isso é em parte conseguido pela incorporação de antígenos do hospedeiro em sua camada cuticular externa. Dessa forma, o verme evita o reconhecimento imunológico e, em algumas doenças (p.ex. esquistossomose), isso permite que o parasita sobreviva no hospedeiro por décadas.

Artrópodes

Os artrópodes possuem corpos segmentados, apêndices articulados pareados e sistemas digestivo e nervoso bem desenvolvidos. Os sexos são separados. A respiração das formas aquáticas é realizada por meio de guelras e das formas terrestres por meio de estruturas corpóreas tubulares. Todos os artrópodes possuem uma cobertura rígida de quitina como um exoesqueleto.

Resumo

A preocupação dos médicos acerca das doenças parasitárias é indubitavelmente mais crítica agora que em qualquer outro momento na história da prática médica. Os médicos devem estar preparados para responder questões de pacientes sobre proteção contra malária e os riscos de se beber água e ingerir frutas e vegetais frescos em áreas remotas onde eles possam estar viajando. Com o conhecimento sobre as doenças parasitárias, o médico pode também avaliar sinais, sintomas e períodos de incubação em viajantes recém-chegados, realizar o diagnóstico e iniciar o tratamento em um paciente com uma possível doença parasitária. Os riscos de doenças parasitárias em indivíduos imunodeprimidos e naqueles com a síndrome da imunodeficiência adquirida também devem ser compreendidos e considerados.

A formação apropriada no que diz respeito às doenças parasitárias no currículo médico não pode ser superenfatizada como um requisito para médicos cuja prática inclui pessoas que viajam para países estrangeiros e populações de refugiados.

Muitos dos parasitas importantes responsáveis por doenças humanas são transmitidos por artrópodes vetores ou são adquiridos pelo consumo de água ou alimento contaminado. As várias formas de transmissão e distribuição das doenças parasitárias são apresentadas em detalhes apropriados nos capítulos a seguir; entretanto, os dados da Tabela 68-4 são apresentados na forma de um esquema.

Referências Bibliográficas

Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life. Biol Rev. 1998;73:203-266.

Cox FEG. History of human parasitology. Clin Microbiol Rev. 2002;15:595-612.

Cox FEG. Taxonomy and classification of human parasites. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Edwards G, Krishna S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of parasite infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23:233–242.

Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. ed 5 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2006.

Hoetz PJ, Molyneux DH, Fenwick A, et al. Control of neglected tropical diseases. N Engl J Med. 2007;357:1018–1027.

John DT, Petri Jr WA. Markell and Voge's medical parasitology. ed 9 St Louis: Saunders; 2006.

Versalovic J, et al. Manual of clinical microbiology. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

CAPÍTULO 69

Patogênese das Doenças Parasitárias

Dada a ampla diversidade existente entre os parasitas humanos, não é surpreendente que a patogênese das doenças causadas por protozoários e helmintos seja muito variável. Apesar dos vários parasitas humanos exibirem ampla gama de mecanismos diretamente patogênicos, na maioria dos casos os próprios organismos não são muito virulentos, são incapazes de se replicarem no hospedeiro, ou apresentam ambas as características. Dessa maneira, a gravidade da doença causada por muitos parasitas está relacionada com a dose infectante e com o número de organismos adquiridos com o tempo. Diferentemente de muitas infecções bacterianas e virais, as infecções parasitárias frequentemente são crônicas, com duração de meses a anos. Exposições repetidas resultam em uma carga parasitária crescente. Quando a infecção por um determinado micro-organismo é associada a uma forte resposta imune, sem dúvida há uma considerável contribuição imunopatológica às manifestações da doença atribuídas à infecção.

Fatores importantes a serem considerados na discussão sobre a patogenicidade de um parasita são listados no Quadro 69-1. Os parasitas quase sempre são exógenos ao hospedeiro humano e, assim, devem entrar no corpo pela ingestão ou de penetração direta nas barreiras anatômicas. O tamanho do inóculo e a duração da exposição influenciam muito o potencial de um micro-organismo causar doença. Do mesmo modo, a via de exposição é crítica para a maioria dos organismos. Por exemplo, cepas patogênicas de *Entamoeba histolytica* não costumam causar doença quando a exposição ocorre na pele intacta, porém podem causar grave disenteria após sua ingestão oral. Muitos parasitas apresentam meios ativos e autodirigidos para invadir o hospedeiro humano. Uma vez realizada a invasão, os parasitas aderem a células ou órgãos específicos do hospedeiro, evitam a detecção imune, replicam-se (a maioria dos protozoários e alguns helmintos), produzem substâncias tóxicas que destroem tecidos e provocam doenças secundárias à própria resposta imunológica do hospedeiro (Quadro 69-1). Além disso, alguns parasitas causam obstrução física e danos a órgãos e tecidos graças unicamente ao seu tamanho. Este capítulo discute os fatores importantes para a patogenicidade dos parasitas e dá exemplos de organismos e processos da doença relacionados com cada fator.



Quadro 69-1 Fatores Associados à Patogenicidade do Parasita

Dose infectante e exposição Penetração das barreiras anatômicas Fixação Replicação Dano celular e tecidual

Destruição, evasão e inativação das defesas do hospedeiro

Exposição e Invasão

Apesar de muitas doenças infecciosas serem causadas por organismos **endógenos** que fazem parte da microbiota normal do hospedeiro humano, não é isso que ocorre na maioria das doenças causadas por parasitas protozoários e helmintos. Esses micro-organismos são na prática adquiridos de fontes **exógenas** que se utilizam de numerosos meios para entrar no corpo do hospedeiro humano. Os meios de entrada mais comuns são a ingestão oral ou a penetração direta através da pele ou de outras superfícies (Tabela 69-1). A transmissão de doenças parasitárias é frequentemente facilitada pela contaminação ambiental com dejetos humanos e animais. Isso se aplica sobretudo a doenças transmitidas pela via fecal-oral, mas também se aplica a infecções helmínticas, como ancilostomose e estrongiloidíase, transmitidas pela penetração larval da pele.



Portas de Entrada do Parasita

Via	Exemplos
Ingestão	Espécies de Giardia, Entamoeba histolytica, espécies de Cryptosporidium, cestoides, nematoides
Penetração direta	
Por picada de artrópode	Malária, espécies de Babesia, filárias, espécies de Leishmania, tripanossomos
Penetração transplacentária	Toxoplasma gondii
Penetração direcionada pelo organismo	Ancilostomídeos, espécies de Strongyloides, esquistossomos

Muitas doenças parasitárias são adquiridas pela picada de vetores **artrópodes**. A transmissão de doença dessa maneira é extraordinariamente eficiente, como evidenciado pela ampla distribuição de doenças como malária, tripanossomíase e filaríase. Exemplos de parasitas e suas portas de entrada são listados na Tabela 69-1. Esta compilação não deveria ser considerada exaustiva; ao contrário, a lista fornece exemplos de alguns dos parasitas mais comuns e os meios através dos quais invadem o corpo humano.

Os fatores adicionais que determinam as consequências da interação parasita-hospedeiro são a via de **exposição** e o tamanho do **inóculo**. A maioria dos parasitas humanos apresenta limitações quanto aos órgãos e tecidos nos quais podem se replicar ou sobreviver. Por exemplo, o simples contato da pele com a maioria dos protozoários intestinais não resulta em doença; em vez disso, os micro-organismos devem ser ingeridos para que o processo que leva à doença seja iniciado. Desse modo, é necessário um número mínimo de organismos para estabelecer a infecção. Embora algumas doenças parasitárias possam ser adquiridas pela ingestão ou inoculação de apenas alguns poucos organismos, geralmente é necessário que o tamanho do inóculo seja razoável. Enquanto um indivíduo pode adquirir malária por meio de uma única picada de um mosquito fêmea infectado, quase sempre são necessários inóculos grandes para que doenças como amebíase sejam produzidas em humanos.

Aderência e Replicação

A maioria das infecções é iniciada com a fixação do organismo aos tecidos do hospedeiro, seguida da replicação para estabelecer colonização. O ciclo de vida de um parasita baseia-se na espécie e nos **tropismos teciduais**, que determinam em que órgãos ou tecidos do hospedeiro um parasita pode sobreviver. Sua fixação às células ou tecidos do hospedeiro pode ser relativamente inespecífica, mediada por partes da boca que exercem força mecânica ou que mordem, ou pode resultar de uma interação entre estruturas da superfície do parasita conhecidas como **adesinas**, e glicoproteínas específicas ou receptores glicolipídicos encontrados em alguns tipos celulares, porém ausentes em outros. As estruturas específicas da superfície que podem facilitar a adesão do parasita incluem **glicoproteínas** (p.ex., glicoforinas A e B), receptores de complemento, componentes da cascata do complemento adsorvidos, fibronectina e conjugados de *N*-acetilglicosamina. Exemplos de alguns dos mecanismos de aderência identificados nos parasitas humanos são listados na Tabela 69-2.



Exemplos de Mecanismos de Aderência de Parasitas

Micro-organismo	Doença	Alvo	Mecanismo de Fixação e Receptor
Plasmodium vivax	Malária	Hemácia	Merozoíta (a fixação não é mediada pelo complemento), antígeno Duffy
Plasmodium falciparum	Malária	Hemácia	Merozoíta e glicoforinas A e B
Espécies de Babesia	Babesiose	Hemácia	Complemento-mediada, receptor de C3b
Giardia duodenalis (intestinalis/lamblia)	Diarreia	Epitélio do duodeno e do jejuno	Lectina de <i>G. lamblia</i> tripsina ativada e manose-6-fosfato. Molécula de aderência de <i>G. lamblia</i> -1 no disco
Entamoeba histolytica	Disenteria	Epitélio do cólon	Conjugados de N-acetilglicosamina e lectina
Trypanosoma cruzi	Doença de Chagas	Fibroblasto	Penetrina, fibronectina e receptor de fibronectina
Leishmania major	Leishmaniose	Macrófago	C3bi e CR3 adsorvidos
Leishmania mexicana	Leishmaniose	Macrófago	Glicoproteína de superfície (gp63) e CR2
Necator americanus Ancylostoma duodenale	Ancilostomose	Epitélio intestinal	Pressão mecânica e mordida com partes da boca

Entamoeba histolytica é um bom modelo para analisar a importância das **adesinas** na virulência. A patogênese da amebíase invasiva requer a aderência da ameba à camada mucosa colônica, a fixação do parasita e a lise do epitélio do cólon com presença de células de inflamação aguda, e a resistência dos trofozoítos amebianos aos mecanismos de defesa imune humoral e celular do hospedeiro. A aderência da ameba a mucinas do cólon, células epiteliais e leucócitos é mediada por uma lectina de superfície que é inibida pela galactose (gal) ou *N*-acetil-d-galactosamina (GalNAc). A ligação da lectina de adesão galactose-inibida a carboidratos na superfície da célula do hospedeiro é necessária para que os trofozoítas da *E. histolytica* exerçam sua atividade citolítica. A presença da lectina de adesão galactose-inibida é uma característica que distingue as formas patogênica e não patogênica das cepas de *E. histolytica*.

Vários mecanismos de fixação têm sido associados a infecções específicas. Por exemplo, o antígeno do grupo sanguíneo Duffy atua como um ponto de ligação para o *Plasmodium vivax*. As hemácias da maioria dos africanos ocidentais, em contraste com as dos europeus, não possuem o antígeno de Duffy. Consequentemente, a malária causada por *P. vivax* é quase desconhecida na África Ocidental. No entanto, a malária vivax clínica foi reportada recentemente em indivíduos com genótipo Duffy-negativo em Madagáscar. As moléculas do parasita e do hospedeiro, que permitem essa invasão dos glóbulos vermelhos humanos independentemente de Duffy, ainda não foram identificadas. As estruturas físicas dos parasitas podem agir como moléculas de adesão para promover a fixação às células do hospedeiro. A *Giardia duodenalis* (anteriormente *intestinalis/lamblia*) é um parasita protozoário que usa um disco ventral para fixar-se ao epitélio intestinal por meio de um mecanismo semelhante a um aperto ou sucção. Duas adesinas identificadas recentemente, a lectina de *G. lamblia* tripsina-ativada (taglina) e a molécula de aderência da *G. lamblia*-1 (MAGL-1), também podem ser importantes na fixação aos enterócitos. Acredita-se que o contato inicial do parasita com a superfície intestinal seja facilitado pela taglina, a qual está distribuída sobre a superfície do parasita, e que a MAGL-1 disco-específica seja responsável pela ávida fixação do disco à superfície do enterócito.

Após a fixação a um tipo específico de célula ou tecido, o parasita pode passar por uma fase de replicação como a etapa seguinte para o estabelecimento da infecção. A maioria dos protozoários parasitas replica-se intracelularmente ou extracelularmente no hospedeiro humano, enquanto em geral não se observa replicação de helmintos capazes de estabelecer infecção no homem.

A temperatura também pode desempenhar um papel importante na habilidade dos parasitas infectarem um hospedeiro e causarem doença. Espécies de *Leishmania* constituem um bom exemplo. *Leishmania donovani* replica-se bem a 37°C e causa leishmaniose visceral com envolvimento da medula óssea, fígado e baço. Em contraste, *L. tropica* cresce bem entre 25°C e 30°C, mas seu crescimento é escasso a 37°C, e causa uma infecção da pele sem envolvimento de órgãos mais profundos.

Dano Celular e Tecidual

Embora alguns micro-organismos possam causar doença por meio da multiplicação localizada e da elaboração de **toxinas** microbianas potentes, a maior parte dos organismos inicia o processo da doença pela invasão de um tecido normalmente estéril com subsequentes replicação e destruição. Protozoários e helmintos parasitários na maioria das vezes não produzem toxinas tão potentes quanto as toxinas bacterianas clássicas, tais como a do antraz e a botulínica; entretanto, a doença parasitária pode ser estabelecida pela elaboração de produtos tóxicos, dano tecidual mecânico e reações imunopatológicas (Tabela 69-3).



Alguns Mecanismos Patológicos em Doenças Parasitárias

Mecanismo	Exemplos					
Produtos Tóxicos dos Parasitas						
Enzimas hidrolíticas, proteinases, colagenase, elastase	Esquistossomos (cercárias), espécies de <i>Strongyloides</i> , ancilostomídeos, <i>Entamoeba histolytica</i> , tripanossomos africanos, <i>P. falciparum</i>					
Ionóforo da ameba	E. histolytica					
Endotoxinas	Tripanossomos africanos, Plasmodium falciparum					
Catabólitos indólicos	Tripanossomos					
Dano Tecidual Mecânico						
Bloqueio de órgãos internos	Espécies de Ascaris, cestoides, esquistossomos, filárias					
Atrofia por pressão	Espécies de Echinococcus e de Cysticercus					
Migração através dos tecidos	Larvas de helmintos					
Imunopatologia	Imunopatologia					
Hipersensibilidade	Ver Tabela 69-4					
Autoimunidade	Ver Tabela 69-4					
Enteropatias com perda de proteínas Ancilostomídeos, cestoides, espécies de Giardia e Strongyloides						
Alterações metaplásicas Espécies de <i>Opisthorchis</i> (vermes no fígado), esquistossomos						

Inúmeros autores têm sugerido que produtos tóxicos elaborados por parasitas protozoários são responsáveis por pelo menos alguns aspectos patológicos (Tabela 69-3). Proteases e fosfolipases podem ser secretadas e são liberadas na destruição de parasitas. Essas enzimas podem causar a destruição de células do hospedeiro, respostas inflamatórias e patologia tecidual total. Por exemplo, o parasita intestinal E. histolytica produz proteinases que podem degradar a membrana basal epitelial e proteínas de ancoragem celular, rompendo as camadas de células epiteliais. Além disso, a ameba produz fosfolipases e uma proteína tipo ionóforo que lisa os neutrófilos reativos do hospedeiro, resultando na liberação dos constituintes de tais neutrófilos que são tóxicos aos tecidos do hospedeiro. A expressão de certas proteinases aumenta conforme a virulência da cepa de E. histolytica. Em contraste com os parasitas protozoários, muitas das consequências das infecções helmínticas estão relacionadas com o tamanho, movimento e longevidade dos parasitas. O hospedeiro é exposto a um dano de longa duração e a uma estimulação imunológica, assim como às consequências físicas abruptas de estar sendo habitado por grandes corpos estranhos. As formas mais óbvias de dano direto causado por parasitas helmínticos são aquelas que resultam do bloqueio mecânico de órgãos internos ou de efeitos da pressão exercida pelos parasitas em crescimento. Organismos adultos e grandes de Ascaris podem bloquear fisicamente o intestino e os ductos biliares. De modo semelhante, o bloqueio da corrente linfática, levando à elefantíase, está associado à presença de organismos adultos de Wuchereria no sistema linfático. Algumas manifestações neurológicas de cisticercose são devidas à pressão exercida por cistos larvais de Taenia solium expandindo-se lentamente no sistema nervoso central (SNC) e nos olhos. A migração de helmintos (quase sempre das formas larvais) através dos tecidos corporais, como pele, pulmões, fígado, intestinos, olhos e SNC, pode causar lesão tecidual direta e iniciar reações de hipersensibilidade.

Como acontece com muitos agentes infecciosos, as manifestações da doença parasitária são devidas não apenas ao dano tecidual mecânico ou químico produzido pelo parasita, mas também às respostas do hospedeiro à presença do parasita. A hipersensibilidade celular é observada na doença causada por protozoários e helmintos (Tabela 69-4). Durante uma infecção parasitária, produtos das células do hospedeiro, como citocinas e linfocinas, são liberados de células ativadas. Esses mediadores influenciam a ação de outras células e podem contribuir diretamente para a patogênese das infecções parasitárias. As reações imunopatológicas abrangem desde reações agudas anafiláticas, até reações de hipersensibilidade tardia mediadas por células (Tabela 69-4). O fato de muitos parasitas terem um longo período de vida significa que muitas alterações inflamatórias se tornam irreversíveis, produzindo alterações funcionaisnos tecidos. Exemplos incluem hiperplasia dos ductos biliares secundária à presença de vermes no fígado e fibrose extensiva levando à disfunção genitourinária e hepática na esquistossomose crônica. A migração de larvas de helmintos através dos tecidos como pele, pulmões, fígado, intestino, SNC e olhos produz alterações inflamatórias imunomediadas nessas estruturas. Finalmente, alterações inflamatórias crônicas ao redor de parasitas como *Clonorchis* (*Opisthorchis*) sinensis e *Schistosoma haematobium* têm sido associadas à indução de alterações carcinomatosas nos ductos biliares e na bexiga, respectivamente.



Reações Imunopatológicas à Doença Parasitária

Reação	Mecanismo	Resultado	Exemplo
Tipo 1: anafilática	Antígeno + anticorpo imunoglobulina E ligado na maioria das células: liberação de histamina	Choque anafilático; broncospasmo; inflamação local	Infecção helmíntica, tripanossomíase africana
Tipo 2: citotóxica	Anticorpo + antígeno na superfície celular: ativação do complemento ou citotoxicidade celular dependente de anticorpo	Lise da célula portadora de antígenos microbianos	Infecção por <i>Trypanosoma</i> cruzi
Tipo 3: imunocomplexo	Anticorpo + complexo antigênico extracelular	Inflamação e dano tecidual; deposição de complexos nos glomérulos, articulações, vasos da pele, cérebro; glomerulonefrite e vasculite	Malária, esquistossomose, tripanossomíase
Tipo 4: mediada por células (tardia)	Reação de célula T sensibilizada com antígeno, liberação de linfocinas, desencadeamento de citotoxicidade	Inflamação, acúmulo mononuclear, ativação de macrófagos Dano tecidual	Leishmaniose, esquistossomose, tripanossomíase

Modificada de Mims C, Dimmock N, Nash A, et al: Mims pathogenesis of infectious disease, ed 4, London, 1995, Academic.

Destruição, Evasão e Inativação das Defesas do Hospedeiro

Apesar de os processos de destruição celular e tecidual muitas vezes serem suficientes para iniciar a doença clínica, o parasita deve ser capaz de escapar do sistema de defesa imune do hospedeiro para que o processo da doença seja mantido. Como outros organismos, os parasitas provocam respostas imunes humorais e celulares; entretanto, parasitas são particularmente especializados em interferir ou evitar esses mecanismos de defesa (Tabela 69-5).



Tabela 69-5

Interferência Microbiana ou Escape das Defesas Imunes

Tipo de Interferência ou Escape	Mecanismo	Exemplos
Variação antigênica	Variação dos antígenos de superfície junto ao hospedeiro	Tripanossomas africanos, espécies de <i>Plasmodium</i> , de <i>Babesia</i> e de <i>Giardia</i>
Mimetismo molecular	Os antígenos microbianos mimetizam antígenos do hospedeiro, levando ao enfraquecimento da resposta humoral	Espécies de <i>Plasmodium</i> , tripanossomos e esquistossomos
Encobrimento do ponto antigênico (mascaramento)	Aquisição de uma cobertura de moléculas do hospedeiro	Cisto hidático, filárias, esquistossomos, tripanossomos
Localização intracelular	Incapacidade de mostrar antígenos microbianos na superfície da célula do hospedeiro	Espécies de <i>Plasmodium</i> (hemácias), tripanossomos, espécies de <i>Leishmania</i> e de <i>Toxoplasma</i>
	Inibição da fusão fagolisossômica	Espécies de Toxoplasma
	Escape do fagossomo no citoplasma, com replicação subsequente	Espécies de <i>Leishmania, Trypanosoma cruzi</i>
Imunossupressão	Supressão das respostas T e B parasito-específicas	Tripanossomos, espécies de Plasmodium
	Degradação de imunoglobulinas	Esquistossomos

Os micro-organismos podem alterar a expressão antigênica, tal como se observa nos tripanossomos africanos. A rápida alteração na expressão de antígenos no glicocálix de tais organismos ocorre toda vez que o hospedeiro apresenta uma nova resposta humoral. Alterações semelhantes têm sido observadas com espécies de *Plasmodium, Babesia* e *Giardia*. Alguns organismos produzem antígenos que mimetizam antígenos do hospedeiro (mimetização) ou adquirem moléculas do hospedeiro que escondem o ponto antigênico (mascaramento), prevenindo assim o reconhecimento imunológico.

Muitos parasitas protozoários escapam da resposta imune assumindo uma localização intracelular no hospedeiro. Organismos que residem dentro de macrófagos desenvolveram uma variedade de mecanismos para evitar a destruição

intracelular. Estes incluem a prevenção da fusão ao fagolisossoma, a resistência à destruição após a exposição a enzimas lisossômicas, e o escape das células fagocitadas do fagossomo no citoplasma, com subsequente replicação do organismo (Tabela 69-5).

A imunossupressão do hospedeiro é observada frequentemente no curso das infecções parasitárias. A imunossupressão pode ser parasito-específica ou generalizada, envolvendo uma resposta a vários antígenos do parasita ou de outra origem. Os mecanismos propostos incluem sobrecarga antigênica, competição antigênica, indução de células supressoras e produção de fatores linfócito-específicos. Certos helmintos, como *Schistosoma mansoni*, também podem produzir proteinases que degradam imunoglobulinas.

Referências Bibliográficas

- Choi BI, Han JK, Hong ST, et al. Clonorchiasis and cholangiocarcinoma: etiologic relationship and imaging diagnosis. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:540–552.
- Clark IA, Alleva LM, Mills AC, et al. Pathogenesis of malaria and clinically similar conditions. Clin Microbiol Rev. 2004;17:509-539.
- Cunningham MW, Fujinami RS. *Molecular mimicry, microbes, and autoimmunity*. Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2000.
- Espinosa-Cantellano M, Martinez-Palomo A. Pathogenesis of intestinal amebiasis: from molecules to disease. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:318–331.
- Girones N, Cuervo H, Fresno M. Trypanosoma cruzi-induced molecular mimicry and Chagas disease, Curr Top Microbiol Immunol (vol 296). Berlin: Springer-Verlag; 2005.
- Graczyk TK, Knight R, Tamang L. Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. Clin Microbiol Rev. 2005;18:128–132.
- Zambrano-Villa S, Rosales-Borjas D, Carrero JC, et al. How protozoan parasites evade the immune response. *Trends Parasitol.* 2002;18:272–278.

CAPÍTULO 70

O Papel dos Parasitas na Doença

Um resumo dos parasitas (protozoários e helmintos) mais comumente associados a doenças humanas é apresentado neste capítulo. Apesar de muitos parasitas estarem associados a um único sistema de órgãos (p.ex., trato gastrointestinal) e causarem um processo de doença envolvendo esse sistema, algumas das manifestações mais significativas da doença parasitária ocorrem quando o parasita deixa seu local "normal" no corpo humano. Dessa maneira, diversos parasitas diferentes podem produzir uma síndrome de doença semelhante. O tratamento de uma infecção parasitária específica pode diferir tremendamente dependendo do agente etiológico, e muitos dos regimes de tratamento antiparasitários são bastante tóxicos; para guiar tanto os esforços diagnósticos como os terapêuticos, é útil que haja um diagnóstico diferencial que inclua os parasitas mais prováveis.

O desenvolvimento e o prognóstico de uma infecção parasitária frequentemente dependem de fatores além da virulência inata do micro-organismo. Na determinação da possibilidade de uma infecção parasitária, do significado de qualquer dado microbiológico, da necessidade de tratar e da escolha do agente, devem-se levar em consideração os numerosos fatores, como a história de exposição (p.ex., viagem para uma área endêmica), a dose infectante potencial e/ou carga parasitária, o uso de profilaxia (p.ex., profilaxia antimalária) e o estado imunológico do hospedeiro. A apresentação de uma determinada infecção parasitária pode ser bastante diferente em viajantes não imunes, que visitam uma área endêmica, *versus* um residente semi-imune da mesma região. Dessa maneira, as estratégias de tratamento e prevenção também serão diferentes.

Este capítulo proporciona uma ampla lista de vários agentes parasitários, comumente associados a infecções em locais específicos do corpo e/ou manifestações clínicas específicas (Tabela 70-1). Esta informação deve ser usada em conjunto com a Tabela 71-1, como um auxiliar no estabelecimento de um diagnóstico diferencial e na seleção das amostras clínicas mais prováveis, que ajudarão a estabelecer um diagnóstico etiológico específico. Outros fatores que podem ser importantes na determinação da frequência relativa na qual parasitas específicos causam doença (p.ex., história de viagem e exposição, apresentações clínicas específicas) são abordados nos capítulos individuais neste texto ou nos textos mais abrangentes sobre doenças infecciosas citados neste e em outros capítulos.



Resumo dos Parasitas Associados a Doenças Humanas

Sistema Afetado e Doença	Patógenos
Sangue	
Malária	Plasmodium falciparum, P. knowlesi, P. malariae, P. ovale, P. vivax
Babesiose	Babesia spp.
Filaríase	Wuchereria bancrofti, Brugia malayi, Mansonella spp., Loa loa
Medula Óssea	
Leishmaniose	Leishmania donovani, Leishmania tropica
Sistema Nervoso Centra	1
Meningoencefalite	Naegleria fowleri, Trypanosoma brucei gambiense, T.b. rhodesiense T. cruzi, Toxoplasma gondii
Encefalite granulomatosa	Acanthamoeba spp., Balamuthia mandrillaris
Lesão expansiva Abscesso cerebral	T. gondii, Taenia solium, Schistosoma japonicum, Acanthamoeba spp., B. mandrillaris
Meningite eosinofílica Malária cerebral	Angiostrongylus cantonensis, Toxocara spp., Baylisascaris (larva migrans neural), P. falciparum
Paragonimíase cerebral	Paragonimus westermani
Olho	
Ceratite	Acanthamoeba spp., Onchocerca volvulus
Coriorretinite Conjuntivite	T. gondii, O. volvulus, L. loa
Cisticercose ocular (lesão expansiva)	T. solium
Toxocaríase	Toxocara spp. (larva migrans ocular; mimetiza o retinoblastoma)
Trato Intestinal	
Prurido anal	Enterobius vermicularis
Colite	Entamoeba histolytica, Balantidium coli
Diarreia/disenteria	E. histolytica, Giardia duodenalis (intestinalis), Cryptosporidium parvum, Cyclospora cayetanensis, Cystoisospora belli, Schistosoma mansoni, Strongyloides stercoralis, Trichuris trichiura
Megacólon tóxico	Trypanosoma cruzi
Obstrução Perfuração	Ascaris lumbricoides, Fasciolopsis buski
Prolapso retal	Trichuris trichiura
Fígado, Baço	
Abscesso	E. histolytica, Fasciola hepatica
Hepatite	T. gondii
Obstrução biliar	A. lumbricoides, F. hepatica, Opisthorchis (Clonorchis) sinensis
Cirrose/hepatoesplenomegalia	L. donovani, L. tropica, Toxocara canis e T. cati (larva migrans visceral), Schistosoma mansoni, S. japonicum
Lesão expansiva	T. solium, Echinococcus granulosus, E. multilocularis
Genitourinário	
Vaginite/uretrite	Trichomonas vaginalis, E. vermicularis
Insuficiência renal	Plasmodium spp., L. donovani
Cistite/hematúria	Schistosoma haematobium, P. falciparum (febre da urina negra)

Sistema Afetado e Doença	Patógenos
Coração	
Miocardite	T. gondii, T. cruzi
Megacardia/bloqueio cardíaco completo	T. cruzi
Pulmão	
Abscesso	E. histolytica, P. westermani
Nódulo/massa	Dirofilaria immitis, E. granulosus, E. multilocularis
Pneumonite	A. lumbricoides, S. stercoralis, Toxocara spp., P. westermani, T. gondii, Ancylostoma braziliense
Linfáticos	
Linfedema	W. bancrofti, B. malayi, outras filárias
Linfadenopatia	T. gondii, tripanossomos
Músculo	
Miosite generalizada	Trichinella spiralis, Sarcocystis lindemanni, Toxocara spp.
Miocardite	T. spiralis, T. cruzi, Toxocara spp.
Pele e Tecido Subcutâneo	
Lesão ulcerativa	Leishmania spp., Dracunculus medinensis
Nódulos/edemas	O. volvulus, L. loa, T. cruzi, Acanthamoeba spp., Toxocara spp.
Exantemas/vesículas	T. gondii, A. braziliense, outros vermes que realizam migração, esquistossomos (dermatite cercariana)
Sistêmico	
Disseminação geral e disfunção múltipla de órgãos	P. falciparum, T. gondii, L. donovani, T. cruzi, Toxocara spp., S. stercoralis, T. spiralis
Deficiência de ferro, anemia	Ancilostomídeos (Ancylostoma duodenale, Necator americanus)
Anemia megaloblástica (deficiência de vitamina B ₁₂)	Diphyllobothrium latum

Referências Bibliográficas

Cohen J, Powderly WG. Infectious diseases. ed 2 St Louis: Mosby; 2004.

Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, et al. Pathology of infectious diseases (vol 2). Stamford, Conn: Appleton & Lange; 1997.

Cook G, Zumala A. Manson's tropical diseases. ed 21 London: Elsevier Science; 2003.

Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. ed 5 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2006.

John DT, Petri Jr WA. Markell and Voge's medical parasitology. ed 9 St Louis: Saunders; 2009.

CAPÍTULO 71

Diagnóstico Laboratorial da Doença Parasitária

O diagnóstico das infecções parasitárias pode ser muito difícil, particularmente em cenários não endêmicos. As manifestações clínicas das doenças parasitárias raras vezes são específicas o bastante para levar o clínico a suscitar a hipótese de tais tipos de doença, e os testes laboratoriais de rotina raramente são úteis. Embora a eosinofilia periférica seja amplamente reconhecida como indicador de doença parasitária, esse fenômeno é característico apenas da infecção por helmintos e até mesmo nesses casos com frequência está ausente. Assim, o médico deve manter um índice de suspeitas elevado e se basear em detalhes sobre viagens, alimentação, transfusões e histórico socioeconômico para levantar a possibilidade de uma doença parasitária. O diagnóstico apropriado requer: (1) que o médico considere a possibilidade de infecção parasitária; (2) que amostras adequadas sejam obtidas e transportadas no tempo certo; (3) que o laboratório realize os procedimentos adequados de maneira competente, permitindo a recuperação e a identificação do agente etiológico; (4) que os resultados laboratoriais sejam comunicados eficientemente ao médico; e (5) que esses resultados sejam interpretados de maneira correta pelo médico e aplicados para o tratamento do paciente. Além disso, para a maioria das doenças parasitárias, os testes de seleção e interpretação apropriados baseiam-se na compreensão do ciclo de vida do parasita, assim como na patogênese do processo no homem.

Inúmeros métodos para o diagnóstico das doenças parasitárias têm sido descritos (Quadro 71-1). Alguns são úteis na detecção de uma ampla variedade de parasitas, enquanto outros são particularmente úteis para um ou alguns poucos parasitas. Ainda que o principal suporte do diagnóstico clínico microbiológico seja o isolamento do patógeno causador em cultura, o diagnóstico das doenças parasitárias é acompanhado quase completamente da demonstração morfológica (em geral microscópica) dos parasitas no material clínico. Ocasionalmente, a demonstração de uma resposta humoral específica (sorodiagnóstico) ajuda a estabelecer o diagnóstico. Atualmente, a detecção de antígenos do parasita no soro, urina ou nas fezes fornece meios rápidos e sensíveis para diagnosticar uma infecção por certos micro-organismos. De modo semelhante, o desenvolvimento de ensaios baseados na detecção de ácidos nucleicos tem comprovado ser um modo excelente para detectar e identificar inúmeros parasitas em amostras biológicas como sangue, fezes, urina, escarro e biópsias de tecidos obtidas de pacientes infectados. Em geral, é melhor para o laboratório oferecer um número limitado de procedimentos que sejam realizados com competência, a oferecer uma ampla variedade de testes que sejam realizados com pouca frequência e de forma ineficiente.



Quadro 71-1 Métodos Laboratoriais para o Diagnóstico de Doenças

Parasitárias

Exame macroscópico

Exame microscópico

Exame direto a fresco

Colorações permanentes

Concentrados de fezes

Exame sorológico

Resposta de anticorpos

Detecção de antígenos

Hibridização de ácido nucleico

Sondas e técnicas de amplificação

Detecção

Identificação

Cultura

Inoculação em animais

Xenodiagnóstico

Este capítulo fornece uma descrição geral dos princípios de coleta e processamento de amostras necessários para diagnosticar a maioria das infecções parasitárias. Detalhes específicos destes e de outros procedimentos podem ser encontrados em vários textos de referência listados nas Referências Bibliográficas.

O Ciclo de Vida do Parasita como Auxiliar no Diagnóstico

Os parasitas podem apresentar ciclos de vida complexos envolvendo um ou vários hospedeiros. A compreensão do ciclo de vida dos organismos parasitários é a chave para o entendimento de aspectos importantes da distribuição geográfica, transmissão e patogênese de muitas doenças parasitárias. Os ciclos de vida dos parasitas muitas vezes também indicam pistas úteis para o diagnóstico. Por exemplo, no ciclo de vida das filárias que infectam o homem, certas espécies (p.ex., Wuchereria bancrofti) apresentam "periodicidade noturna" na qual um número maior de microfilárias é encontrado no sangue periférico à noite. A amostragem do sangue de tais pacientes durante o período diurno não possibilitará a detecção das microfilárias, enquanto as amostras de sangue coletadas entre 22h e 4h da manhã podem demonstrar um grande número delas. Semelhantemente, nematoides intestinais, como Ascaris lumbricoides e ancilostomídeos, que residem no lúmen do intestino, produzem um grande número de ovos que podem ser detectados facilmente nas fezes de um paciente infectado. Em contraste, outro nematoide intestinal, Strongyloides stercoralis, deposita seus ovos na parede do intestino em vez de no lúmen. Como resultado, os ovos raras vezes são vistos nas fezes durante o exame; para fazer o diagnóstico, o parasitologista deve atentar para a presença de larvas. Finalmente, os parasitas podem causar sintomas clínicos em algum momento quando as formas diagnósticas ainda não estiverem presentes em seu ponto usual. Por exemplo, em certas infecções por nematoides intestinais, a migração das larvas através dos tecidos pode causar uma sintomatologia intensa semanas antes de os ovos característicos estarem presentes nas fezes.

Considerações Gerais sobre o Diagnóstico

A importância da coleta apropriada da amostra, o número e o horário de coleta das amostras, o tempo para o transporte até o laboratório e a pronta análise do material por um microscopista experiente não podem ser superestimados. Como a maioria das análises e identificações parasitológicas são inteiramente baseadas no reconhecimento das características morfológicas dos organismos, qualquer condição que possa obscurecer ou distorcer a aparência morfológica do parasita resultará em uma identificação errônea ou em um diagnóstico equivocado. Como observado anteriormente e também no Quadro 71-1, podem existir alternativas à microscopia para a detecção e identificação de certos parasitas. Esses testes (p.ex., detecção de antígeno, amplificação/detecção de ácido nucleico) têm sido mais amplamente empregados. Eles oferecem a promessa de serem mais rápidos, sensíveis e específicos para o diagnóstico das doenças parasitárias. Essas opções de testes diagnósticos devem expandir as capacidades de teste de muitos laboratórios, permitindo que os mesmos com proficiência limitada em parasitologia ofereçam testes diagnósticos para certas doenças parasitárias. Uma lista de procedimentos comuns e incomuns e de amostras que devem ser coletadas para determinadas infecções parasitárias é fornecida na Tabela 71-1.



Pontos Corporais, Coleta de Amostras e Procedimentos de Diagnóstico para Infecções Parasitárias Selecionadas

Organismo Infectante	Opções de Amostra	Métodos de Coleta	Procedimento Diagnóstico
Sangue			
Espécies de Plasmodium, Babesia, filárias, Leishmania, Toxoplasma, Trypanosoma	Sangue total com anticoagulantes	Punção venosa	Exame microscópico (coloração de Giemsa), ou coloração fluorescente com alaranjado de acridina Esfregaço delgado Esfregaço espesso Concentração do sangue (filária) Sorologia Anticorpo Antígeno PCR
Medula Óssea			
Espécies de Leishmania, Trypanosoma cruzi	Aspirado	Estéril	Exame microscópico (coloração de Giemsa) Cultura
	Soro	Punção venosa	Sorologia (anticorpo) PCR
Sistema Nervoso Central			
Espécies de <i>Acanthamoeba</i> , <i>Naegleria</i> , tripanossomos, <i>Toxoplasma gondii</i>	Líquido espinhal	Estéril	Exame microscópico Exame direto a fresco Coloração permanente Cultura
	Soro	Punção venosa	Sorologia (anticorpo) PCR
Úlceras Cutâneas			
Espécies de <i>Leishmania</i> e <i>Acanthamoeba</i>	Aspirado	Estéril com esfregaço	Exame microscópico (coloração de Giemsa)
	Biópsia	Estéril, não estéril para histologia	Cultivo
	Soro	Punção venosa	Sorologia (anticorpo) PCR
Olhos			
Espécies de Acanthamoeba, Loa loa	Raspagem da córnea	Esfregaço em salina estéril, seco ao ar	Exame microscópico Exame direto a fresco Coloração permanente
	Biópsia da córnea	Salina estéril	Cultivo
Trato Intestinal			-
Entamoeba histolytica	Fezes frescas	Frasco lubrificado	Exame microscópico Exame direto a fresco
	Fezes preservadas	Formalina, APV	Coloração permanente
	Material de sigmoidoscopia	Material fresco, APV	Sorologia
		Esfregaços de Schaudinn	Antígeno (fezes) Cultivo PCR
	Soro	Punção venosa	Sorologia Anticorpo (soro)

Organismo Infectante	Opções de Amostra	Métodos de Coleta	Procedimento Diagnóstico
Espécies de Giardia	Fezes frescas	Frasco lubrificado	Exame microscópico Exame direto a fresco
	Fezes preservadas	Formalina, APV	Colorações permanentes Antígeno
	Conteúdo duodenal	Entero Test® ou aspirado	IF EIA Cultivo PCR
Espécies de <i>Cryptosporidium</i>	Fezes frescas	Frasco lubrificado	Exame microscópico (acidorresistente) Antígeno IF
	Fezes preservadas	Formalina, APV	
	Biópsia	Salina	EIA PCR
Oxiúro	Esfregaço de impressão anal	Fita de celofane	Exame macroscópico Exame microscópico (ovos)
Helmintos	Fezes frescas	Frasco lubrificado	Exame macroscópico (adultos) Exame microscópico (larvas e ovos)
	Fezes preservadas	Formalina, APV	Cultivo (<i>Strongyloides</i> , fezes frescas)
	Soro	Punção venosa	Sorologia (anticorpo)
Fígado, Baço			
E. histolytica, espécies de Leishmania	Aspirados	Estéril, coletado em quatro alíquotas separadas (fígado)	Exame microscópico Exame direto a fresco Coloração permanente
	Biópsia	Estéril; não estéril para histologia	Cultivo
	Soro	Punção venosa	Sorologia Antígeno Anticorpo
Pulmão			
Raramente: amebas (E. histolytica), trematódeos (Paragonimus westermani), larvas (Strongyloides	Escarro	Induzida, sem preservador	Exame microscópico Coloração de Giemsa Coloração de Gram Hematoxilina e eosina
stercoralis) ou acúleos de cestoides	Lavados	Sem preservador	
	Aspirados transbronquiais	Esfregaços secos ao ar	
	Biópsia de escovação	Esfregaços secos ao ar	
	Biópsia pulmonar a céu aberto	Preparações de polpa fresca; não estéreis para histologia	
	Soro	Punção venosa	Sorologia Antígeno Anticorpo
Músculo			
Trichinella spiralis, T. cruzi	Biópsia	Não estéril para histologia	Exame microscópico (colorações permanentes)
	Soro	Punção venosa	Sorologia Anticorpo Antígeno
Pele	•		
Onchocerca volvulus, espécies de Leishmania, Larva migrans cutânea	Raspados	Asséptico, esfregaço ou em frasco	Exame microscópico Exame direto a fresco

Organismo Infectante	Opçõlés odettâneo Bi ápsis tra	Métodos de Goleta Não estéril para histologia	Coloração permanente Procedimento Diagnostico
Sistema Urogenital	Soro	Punção venosa	Sorologia (anticorpo) Cultivo (espécies de <i>Leishmania</i>)
Trichomonas vaginalis Secreção vaginal	Secreção vaginal	Swab em salina, meio de cultivo	Exame microscópico Exame direto a fresco
	Secreções prostáticas	Swab em salina, meio de cultivo	Coloração permanente Antígeno (IF)
	Secreção uretral	Swab em salina, meio de cultivo	Cultivo Sorologia (anticorpo) Sondas de ácido nucleico
Schistosoma haematobium	Urina	Amostra única não preservada	Exame microscópico
	Biópsia	Não estéril para sorologia	

APV, álcool polivinílico EIA, Imunoensaio enzimático; IF, imunofluorescência; PCR, reação em cadeia da polimerase.

Infecções Parasitárias dos Tratos Intestinal e Urogenital

Protozoários e helmintos podem colonizar ou infectar os tratos intestinal e urogenital do homem. Mais comumente, estes parasitas são amebas, flagelados ou nematoides (Tabela 71-2). Entretanto, infecção por parasita trematódeos, cestoides, ciliados ou coccídios também pode ser encontrada.



Tabela 71-2

Parasitas Intestinais mais Comumente Identificados nos Laboratórios dos Estados Unidos

Micro-organismo	Percentual do Total de Amostras Positivas (n = 2.933)
Giardia duodenalis (lamblia)	54
Dientamoeba fragilis	25
Entamoeba histolytica/E. dispar	7
Cryptosporidium parvum	5
Ascaris lumbricoides	2
Trichuris trichiura	2
Strongyloides stercoralis	1
Enterobius vermicularis	1
Hymenolepis nana	1
Ancilostomídeos	<1
Таепіа	<1
Espécies de Cystoisospora	<1
Cyclospora	<1
Coccidia	<1
Outros helmintos	<1

Dados compilados de Branda JA, Lin TY, Rosenberg ES, et al: A rational approach to the stool ova and parasite examination, *Clin Infect Dis* 42:972–978, 2006; e Polage CR, Stoddard GJ, Rolfs RT, et al: Physician use of parasite tests in the United States from 1997 to 2006 and in a Utah *Cryptosporidium* outbreak in 2007, *J Clin Microbiol* 49:591–596, 2011.

Nas infecções intestinais e urogenitais, uma simples preparação a fresco ou um esfregaço corado muitas vezes são inadequados. Com frequência, é necessário realizar coletas de amostras e testes repetidamente para otimizar a detecção de organismos que são eliminados de modo intermitente ou em números flutuantes. A concentração das amostras por meio de técnicas de sedimentação ou flutuação pode ser necessária para a detecção de pequeno número de ovos (vermes) ou cistos (protozoários) em amostras de fezes. Considerando que o exame parasitológico de fezes de rotina para pesquisa de ovos de

helmintos e cistos de protozoários é útil para detecção de infecções causadas por helmintos e amebas, os médicos às vezes (inapropriadamente) favorecem essa abordagem como um método de triagem para parasitas intestinais e subutilizam os imunoensaios para *Giardia* e *Cryptoporidium* a despeito de sua superioridade epidemiológica e de desempenho entre os pacientes de baixo risco para outros parasitas (p.ex., helmintos e *Entamoeba histolytica*).

Ocasionalmente, outras amostras que não fezes ou urina devem ser examinadas (Tabela 71-1). A detecção ideal de pequenos patógenos intestinais, como *Giardia duodenalis* e *S. stercoralis*, pode necessitar de aspiração do conteúdo duodenal ou até mesmo de biópsia do intestino delgado. Do mesmo modo, a detecção de parasitas do cólon, como *E. histolytica* e *Schistosoma mansoni*, pode necessitar de exames proctoscópicos ou sigmoidoscópicos com aspiração ou biópsia de lesões mucosas. A amostragem da pele na região perianal é um meio útil para recuperar os ovos de *Enterobius vermicularis* (oxiúros) ou de espécies de *Taenia* (cestoides).

Coleta de Amostras de Fezes

Pacientes, clínicos e o pessoal de laboratório devem ser adequadamente instruídos sobre a coleta e o manuseio das amostras. Amostras de fezes devem ser coletadas em frascos limpos, com abertura ampla, impermeáveis e hermeticamente fechados para garantir o teor de umidade adequado. As amostras não devem ser contaminadas com água, solo ou urina, uma vez que água e solo podem conter micro-organismos de vida livre, prováveis de serem confundidos com parasitas humanos, e a urina pode destruir trofozoítos móveis e também causar rachadura de ovos de helmintos. Amostras de fezes não devem conter bário, bismuto ou medicações contendo óleo mineral, antibióticos, antimaláricos ou outras substâncias químicas, pois tudo isso compromete a detecção dos parasitas intestinais. A coleta de amostras deve ser retardada por 5 a 10 dias para permitir a eliminação do bário, e por pelo menos por 2 semanas no caso de antibióticos como a tetraciclina a fim de propiciar que os parasitas intestinais se recuperem dos efeitos tóxicos (mas não curativos) dos fármacos.

Amostras purgadas podem ser coletadas quando os organismos não são detectados nas amostras fecais evacuadas normalmente; contudo, somente alguns tipos de purgantes (sulfato de sódio e bifosfato de sódio tamponado [fosfosoda]) são satisfatórios. Uma série de amostras purgadas pode ser examinada no lugar de uma série, ou em adição a ela, de amostras que foram evacuadas normalmente.

Amostras fecais formadas e sem conservantes devem chegar ao laboratório dentro de 2 horas após a evacuação. Se as fezes estiverem líquidas e assim mais propensas a conterem trofozoítos, devem chegar ao laboratório em 30 minutos para serem analisadas. Fezes moles ou soltas devem ser examinadas 1 hora após a evacuação. Se não for possível realizar o exame dentro dos limites de tempo recomendados, todas as amostras frescas devem ser mantidas em preservadores como a formalina a 10%, álcool polivinílico (APV), mertiolato-iodo-formaldeído (MIF) ou acetato de sódio-ácido acético-formaldeído (SAF). Amostras fecais podem ser estocadas a 4°C, porém não devem ser incubadas nem congeladas.

O número de amostras necessário para demonstrar parasitas intestinais é variável, dependendo da qualidade da amostra submetida, da acurácia do exame realizado, da gravidade da infecção e do propósito da análise. Se o médico estiver interessado apenas na determinação da presença ou ausência de helmintos, um ou dois exames podem ser suficientes, contanto que sejam utilizados métodos de concentração das amostras. Para um exame parasitário de rotina, recomenda-se um total de três amostras fecais. O exame de três amostras que utiliza uma combinação de técnicas garante a detecção de mais de 99% das infecções. Em um levantamento realizado nos Estados Unidos, o exame de três amostras foi necessário para que 100% dos pacientes infectados fossem detectados (Tabela 71-3).



Tabela 71-3

Número de Amostras Necessárias para Detectar Parasitas Intestinais

Número de Amostra por Paciente	Percentual de Pacientes Infectados Detectados (n = 130)
1	71,5
2	86,9
3	100

Dados compilados de Branda JA, Lin TY, Rosenberg ES, et al: A rational approach to the stool ova and parasite examination, Clin Infect Dis 42:972–978, 2006.

Não é apropriado que várias amostras sejam coletadas do mesmo paciente no mesmo dia. Também não é recomendado que as três amostras sejam submetidas a exame uma por dia durante 3 dias consecutivos. As séries de três amostras devem ser coletadas dentro de 10 dias, no máximo. Muitos parasitas não aparecem em amostras de fezes em grande número diariamente; por isso, a coleta de amostras em dias alternados tende a render percentuais maiores de resultados positivos.

Nos Estados Unidos, a submissão de fezes ao exame parasitológico proveniente de pacientes com diarreia coletada no hospital (com início após > 3 dias da internação) quase sempre tem se mostrado inapropriada. Isso se deve à rara frequência de contaminação de parasitas protozoários ou helmintos em hospitais. Uma solicitação de exame parasitológico de fezes de um paciente hospitalizado deve ser acompanhada de uma declaração clara das indicações clínicas e apenas feita depois que as causas mais comuns de diarreia coletada em hospital (p.ex., induzida por antibióticos) tiverem sido excluídas.

Técnicas de Exame de Fezes

As amostras devem ser examinadas de maneira sistemática por um microscopista competente, à procura de ovos e larvas de helmintos, assim como de protozoários intestinais. Para uma boa detecção desses agentes infecciosos, é necessário empregar uma combinação de várias técnicas de análise.

Exame Macroscópico

A amostra fecal deve ser examinada quanto à consistência e à presença de sangue, muco, vermes e proglotes.

Exame Direto a Fresco

Fezes frescas devem ser examinadas sob o microscópio usando-se a técnica de montagem a fresco com salina e solução de iodo para detectar trofozoítos móveis ou larvas (*Strongyloides*). Essas preparações também são usadas para detectar ovos de helmintos, cistos de protozoários e células do hospedeiro como leucócitos e hemácias. Essa técnica também é útil no exame de material proveniente de escarro, urina, esfregaços vaginais, aspirados duodenais, sigmoidoscopia, abscessos e biópsias de tecidos.

Concentração

Todas as amostras fecais devem ser colocadas em formalina a 10% para preservação da morfologia do parasita e devem ser concentradas por meio da utilização de procedimentos como sedimentação com formalina-acetato de etila (ou formalina-éter) ou flutuação em sulfato de zinco. Esses métodos separam cistos de protozoários e ovos de helmintos da massa de material fecal e, assim, melhoram a detecção de pequenos números de organismos que geralmente não são percebidos quando se faz apenas um esfregaço direto. Após a concentração, o material é corado com solução de iodo e examinado microscopicamente.

Esfregaços Permanentemente Corados

A detecção e a identificação correta de protozoários intestinais dependem do exame de esfregaços corados permanentemente. Essas lâminas fornecem um registro permanente dos organismos protozoários identificados em uma amostra. O detalhe citológico revelado por um dos métodos de coloração permanente é essencial para uma identificação correta, sendo que a maioria das identificações deveria ser considerada apenas como tentativa até serem confirmadas por uma lâmina corada permanentemente. As colorações permanentes comumente utilizadas são a do tricromo, hematoxilina férrica e hematoxilina-ácido fosfotúngstico. As lâminas são feitas tanto pela preparação de esfregaços de material fecal fresco e então fixadas em solução de Schaudinn, como pela fixação de uma pequena quantidade de material fecal em preservador APV. Convém observar que a solicitação de um exame parasitológico de fezes não inclui necessariamente colorações especiais necessárias para detectar organismos, tais como o *Cryptosporidium* ou *Cyclospora*. Se esses organismos são considerados no diagnóstico diferencial, a solicitação para exame de fezes deve contemplar isso explicitamente para que as colorações especiais necessárias acidorresistentes (*Cryptosporidium*, *Cyclospora*), procedimentos (imunoensaio [*Cryptosporidium*] e PCR [*Cryptosporidium* e *Cyclospora*]) possam ser realizados.

Coleta e Exame de Outros Tipos de Amostras não Fecais

Frequentemente, outros tipos de amostras não fecais devem ser coletados e examinados para o diagnóstico de infecções causadas por patógenos intestinais. Essas amostras incluem material perianal, sigmoidoscópico, aspirados do conteúdo duodenal, abscessos hepáticos, escarro, urina e amostras urogenitais.

Amostras Perianais

Com frequência, a coleta de amostras perianais é necessária para o diagnóstico de infecções por oxiúro (*E. vermicularis*) e ocasionalmente por *Taenia* (cestoides). Os métodos incluem a preparação de uma lâmina com fita de celofane adesiva e transparente ou um *swab* anal. A preparação desse material é o método de escolha para detecção de ovos de *Enterobius*. Amostras coletadas por qualquer um desses métodos devem ser obtidas pela manhã antes de o paciente tomar banho ou ir ao banheiro. O método da fita requer que a face adesiva seja pressionada firmemente contra as pregas perianais direita e esquerda e em seguida que a fita seja espalhada sobre a superfície de uma lâmina de microscopia. Desse modo, o *swab* anal deve ser esfregado suavemente sobre a região perianal e transportado para o laboratório para exame microscópico. Seja qual for o método de coleta, as lâminas ou *swabs* devem ser mantidos a 4°C caso o transporte para o laboratório seja demorado.

Material Sigmoidoscópico

O material de sigmoidoscopia pode ser útil no diagnóstico da infecção por *E. histolytica* que não tenha sido detectada por meio do exame parasitológico das fezes. As amostras consistem em material fragmentado ou aspirado de superfícies mucosas. Ao menos seis áreas devem ser amostradas. Após a coleta, o material deve ser colocado em um tubo contendo salina a 0,85% e mantido aquecido durante o transporte até o laboratório. As amostras devem ser examinadas imediatamente para pesquisa de trofozoítos móveis.

Aspirados Duodenais

A amostragem e o exame do conteúdo duodenal são um meio de recuperar larvas de *Strongyloides*, ovos de espécies de *Clonorchis*, *Opisthorchis* e *Fasciola*, e organismos que parasitam o intestino delgado como *Giardia*, *Cystoisospora* e *Cryptosporidium*. Os exemplares podem ser obtidos por meio de endoscopia ou com o uso de cápsulas entéricas ou do teste do barbante (Entero Test®). A biópsia endoscópica da mucosa do intestino delgado pode revelar organismos de *Giardia*, *Cryptosporidium* e microsporídios, e larvas de *Strongyloides*. As amostras devem ser coletadas em solução salina e transportadas diretamente para o laboratório para exame microscópico.

Aspirados de Abscessos Hepáticos

Lesões supurativas do fígado e dos espaços subfrênicos podem ser causadas por *E. histolytica* (amebíase extraintestinal). A amebíase extraintestinal pode ocorrer na ausência de qualquer história de infecção intestinal sintomática. A amostra deve ser coletada das margens do abscesso hepático em vez do centro necrótico. A primeira porção removida geralmente tem uma aparência branco-amarelada e raras vezes contém amebas. As últimas porções, que são avermelhadas, têm maiores chances de conterem organismos. Devem ser retiradas pelo menos duas porções separadas. Após a aspiração, o colapso dos abscessos e o subsequente influxo de sangue muitas vezes liberam amebas dos tecidos. Aspirações subsequentes podem apresentar maiores chances de revelarem organismos. O material aspirado deve ser transportado imediatamente para o laboratório.

Escarro

Ocasionalmente, parasitas intestinais podem ser detectados no escarro. Esses organismos incluem as larvas de *Ascaris, Strongyloides* e ancilostomídeos, rostros de cestoides, e protozoários intestinais como *E. histolytica* e espécies de *Cryptosporidium*. O exemplar deve ser escarro profundo, e não saliva primária, devendo ser entregue de imediato no laboratório. O exame microscópico deve incluir preparações montadas a fresco em salina e preparações permanentemente coradas.

Urina

O exame de amostras de urina pode ser útil no diagnóstico de infecções causadas por *Schistosoma haematobium* (ocasionalmente outras espécies também) e *Trichomonas vaginalis*. A detecção de ovos na urina pode ser realizada usando-se detecção direta ou concentração, empregando a técnica da sedimentação por centrifugação. Os ovos podem ficar presos em muco ou pus e estão presentes com mais frequência nas últimas gotas de urina que em amostras obtidas no início do processo de micção. A produção de ovos de *Schistosoma* varia e por isso os exames devem ser realizados ao longo de vários dias. *T. vaginalis* pode ser encontrado no sedimento urinário de pacientes de ambos os sexos.

Amostras Urogenitais

Estas amostras são coletadas quando há suspeita de infecção por *T. vaginalis*. A identificação baseia-se no exame de preparações a fresco de secreções vaginal, uretral e prostática ou sedimento de urina. As amostras devem ser colocadas em frascos contendo um pequeno volume de salina a 0,85% e enviadas imediatamente ao laboratório para serem examinadas. Se nenhum organismo for detectado nos exames diretos a fresco, devem ser realizadas culturas.

Infecções Parasitárias do Sangue e dos Tecidos

Parasitas localizados no sangue ou nos tecidos do hospedeiro são mais difíceis de detectar que parasitas intestinais e urogenitais. O exame microscópico de esfregaços sanguíneos é um meio direto e útil para detecção de parasitas maláricos, tripanossomos e microfilárias. Infelizmente, como a concentração de organismos muitas vezes é flutuante, é necessário que se faça a coleta de múltiplas amostras durante vários dias. O principal suporte do diagnóstico é a realização de ambos, exame direto a fresco (microfilárias e tripanossomos) e esfregaços sanguíneos espessos e delgados permanentemente corados. O exame de amostras de escarro pode revelar ovos de helmintos (parasitas no pulmão) ou larvas (*Ascaris* e espécies de *Strongyloides*) após o emprego de técnicas de concentração apropriadas. A biópsia da pele (oncocercíase) ou de um músculo (triquinose) pode ser necessária para o diagnóstico de certas infecções por nematoides (Tabela 71-1).

Esfregaços Sanguíneos

O diagnóstico clínico de doenças parasitárias como malária, leishmaniose, tripanossomíase e filaríase fundamenta-se em grande parte na coleta de amostras de sangue realizadas no momento certo e no exame microscópico competente de esfregaços sanguíneos espessos e delgados, preparados e corados adequadamente. O melhor momento para a coleta de sangue para exames parasitológicos varia de acordo com o parasita que se busca em particular.

Como a malária é uma das poucas infecções parasitárias que pode ser agudamente incompatível com a vida, então a coleta de sangue e o exame dos esfregaços sanguíneos devem ser realizados imediatamente caso o diagnóstico apresente suspeitas. Os laboratórios que oferecem este serviço devem estar preparados para o atendimento de 24 horas e 7 dias por semana. Como os níveis de parasitemia podem estar baixos ou flutuarem, é recomendado que se faça a repetição dos esfregaços sanguíneos, bem como de seu exame em 6, 12 e 24 horas após a amostragem inicial. A detecção de tripanossomos

no sangue é possível algumas vezes durante a fase inicial aguda da doença. *Trypanosoma cruzi* (doença de Chagas) também pode ser detectado durante os períodos febris subsequentes. Após vários meses a 1 ano, os tripomastigotas da tripanossomíase africana (*Trypanosoma brucei rhodesiense* e *T. b. gambiense*) são mais bem demonstrados no fluido espinhal que no sangue. As amostras de sangue para detecção de microfilárias noturnas (*W. bancrofti* e *Brugia malayi*) devem ser obtidas entre 10 horas da noite e 4 horas da manhã, enquanto as amostras para pesquisa de *Loa loa* diurna são obtidas ao redor do meio-dia.

Dois tipos de esfregaços sanguíneos são preparados para o diagnóstico de infecções por parasitas do sangue: esfregaços delgados e espessos (gota espessa). Apesar de preparações de exame direto a fresco do sangue poderem ser examinadas para a pesquisa de parasitas móveis (microfilária e tripanossomos), a maioria dos laboratórios procede diretamente ao preparo dos esfregaços delgados e espessos para coloração. No esfregaço delgado, o sangue é espalhado sobre a lâmina em uma fina camada (células únicas) e as hemácias permanecem intactas após a fixação e coloração. No esfregaço espesso (gota espessa), as hemácias são lisadas antes da coloração, e só os leucócitos, as plaquetas e os parasitas (caso presentes) são visíveis. Os esfregaços espessos permitem que uma quantidade maior de sangue seja examinada, ao mesmo tempo que aumenta a possibilidade de detectar infecções leves. Infelizmente, um aumento na distorção dos parasitas torna a identificação das espécies no esfregaço espesso particularmente difícil. O uso adequado dessa técnica quase sempre requer um grau considerável de competência e de experiência.

Ocasionalmente, outros procedimentos de concentração do sangue podem ser utilizados para a detecção de infecções brandas. Métodos alternativos de concentração para detectar parasitas no sangue incluem o uso de centrifugação do microhematócrito, o exame de preparações da camada leucoplaquetária, a técnica da centrifugação tríplice para detecção de pequenos números de tripanossomos e a técnica que utiliza uma membrana de filtração para detecção da microfilária.

Estando prontos, os esfregaços devem ser corados. A coloração de parasitas do sangue mais segura é obtida por meio do corante de Giemsa tamponado em pH 7,0 a 7,2, embora algumas vezes possam ser utilizadas colorações especiais para identificar espécies de microfilárias. A coloração de Giemsa é particularmente útil para corar protozoários (malária e tripanossomos); entretanto, a camada de microfilárias nem sempre é corada por Giemsa. Nesse caso, podem ser empregadas colorações derivadas da hematoxilina.

Outras Amostras que não o Sangue

Pode ser necessário examinar amostras de tecido e de fluidos corporais que não o sangue, com base na apresentação clínica e em considerações epidemiológicas. Esfregaços e concentrados de líquido cefalorraquidiano são necessários para a detecção de trofozoítos de *Naegleria fowleri*, tripanossomos e larvas do nematoide *Angiostrongylus cantonensis* no sistema nervoso central. O líquido cefalorraquidiano deve ser prontamente examinado, porque as formas trofozoíticas desses parasitas são muito lábeis (tripanossomos), ou tendem a se arredondar e tornam-se imóveis (*N. fowleri*). O exame de esfregaços por aposição tecidual de linfonodos, material de biópsia hepática, baço ou medula óssea corado pela coloração de Giemsa é muito útil na detecção de parasitas **intracelulares** como espécies de *Leishmania* e *Toxoplasma gondii*. De modo semelhante, biópsias de vários tecidos constituem meios excelentes para a detecção de infecções localizadas ou disseminadas que sejam causadas por protozoários e parasitas helmínticos. Preparações de retalhos cutâneos em salina são muito úteis na detecção de microfilárias de *Onchocerca volvulus*. O exame de escarro (induzido) é indicado em casos em que há suspeita de paragonimíase pulmonar (trematódeo no pulmão) ou formação de abscesso com *E. histolytica*. As larvas de *Strongyloides* podem ser detectadas no escarro na síndrome de hiperinfecção.

Alternativas à Microscopia

Na maioria dos casos, o diagnóstico de doenças parasitárias é feito no laboratório por meio de detecção microscópica e identificação morfológica do parasita em amostras clínicas. Em alguns casos, não é possível detectar o parasita nem mesmo por intermédio de uma pesquisa cuidadosa devido ao baixo número ou à ausência de organismos no material clínico disponível prontamente. Nesses casos, o clínico precisará do apoio de métodos alternativos baseados na detecção de materiais derivados do parasita (antígenos e ácidos nucleicos), ou por meio da resposta do hospedeiro à invasão parasitária (anticorpos). Abordagens adicionais utilizadas em determinadas infecções incluem cultura, inoculação em animais e xenodiagnóstico.

Imunodiagnóstico

Métodos imunodiagnósticos têm sido utilizados há muito tempo para auxiliar no diagnóstico das doenças parasitárias. A maioria desses testes sorológicos baseia-se na detecção de respostas específicas de anticorpos à presença do parasita. As abordagens analíticas incluem o uso da aglutinação clássica, fixação do complemento e de métodos de gel-difusão, como ensaios mais modernos de imunofluorescência (IF), imunoensaio enzimático (EIA) e Western blot. A detecção de anticorpo é útil e indicada para o diagnóstico de muitas doenças causadas por protozoários (p.ex., amebíase extraintestinal, tripanossomíase sul-americana, leishmaníase, malária e babesiose adquiridas por transfusão e toxoplasmose) e por helmintos (p.ex., clonorquíase, cisticercose, hidatiose, filaríase linfática, esquistossomíase, triquinelose e toxocaríase). Há um problema relacionado com a detecção de anticorpos como um procedimento diagnóstico: devido à persistência dos

anticorpos durante meses e até anos após a infecção aguda, a demonstração de anticorpos raramente pode diferenciar a infecção aguda da crônica.

Em contraste com a detecção de anticorpos, a quantificação de antígenos circulantes do parasita no soro, urina ou nas fezes pode fornecer um marcador mais adequado da presença de uma infecção ativa e também pode indicar a carga parasitária. Do mesmo modo, demonstrações de antígenos de parasitas específicos em líquidos de lesão, como material de um abscesso amebiano ou líquido de um cisto hidático, podem fornecer um diagnóstico definitivo do organismo infectante. Os ensaios mais comumente utilizados para detectar antígenos empregam os princípios do EIA; entretanto, os métodos de imunofluorescência, radioimunoensaio, imunocromatografia e Western blot também têm se provado úteis. Atualmente, muitos ensaios comerciais para detecção de antígenos parasitários encontram-se disponíveis sob a forma de kits. Estes incluem ensaios de EIA e imunocromatografia para detecção de Giardia, E. histolytica, Entamoeba dispar e espécies de Cryptosporidium nas fezes, EIA para detecção de T. vaginalis em amostras urogenitais, e ensaios de imunofluorescência (IF) para a detecção de espécies de Giardia, Cryptosporidium e Trichomonas. Vários testes de detecção de antígenos também estão disponíveis para a detecção de parasitas do sangue (malária, filaríase) em conjunto com o exame microscópico de esfregaços sanguíneos espessos e delgados. A sensibilidade e a especificidade descritas para a maioria destes kits são boas. As vantagens dessas abordagens são a economia de trabalho e um potencial aumento da sensibilidade. Certamente, vários estudos têm mostrado que os imunoensaios são mais sensíveis que o exame microscópico na detecção de infecções por Cryptosporidium e Giardia. Da mesma maneira, testes de diagnóstico rápido para detecção de antígenos de Plasmodium spp. podem superar microscopia em determinadas situações e estão sendo considerados para utilização a campo, especialmente porque o uso de terapias mais caras de combinação de artemisinina torna o diagnóstico laboratorial da malária mais vantajoso que o tratamento empírico na era da resistência à cloroquina. As desvantagens são a perda da habilidade parasitológica e o fato de que em alguns casos os ensaios testam apenas a presença de um único organismo, enquanto o exame microscópico convencional possibilita o reconhecimento de muitos parasitas diferentes. Embora os ensaios para detecção de antígenos tenham sido descritos para muitos outros parasitas, sua disponibilidade é restrita. A disponibilidade de um amplo painel de ensaios para detecção de antígenos potencialmente tornaria o uso de uma triagem de antígenos uma alternativa viável ao tedioso exame microscópico.

Abordagens de Diagnóstico Molecular

Além dos métodos imunológicos, o diagnóstico das doenças parasitárias tem aumentado consideravelmente pela aplicação de métodos de diagnóstico molecular baseados na hibridização, amplificação e sequenciamento de ácidos nucleicos. Essa abordagem beneficia-se do fato de todos os organismos conterem sequências de ácidos nucleicos que podem ser utilizadas em um ensaio de hibridização para distinguir variedades, espécies e gêneros. Dessa maneira, os parasitas podem ser simultaneamente detectados e identificados no material clínico, dependendo da especificidade do método molecular empregado. Os sistemas que se baseiam na detecção de ácidos nucleicos apresentam outra vantagem: são independentes das condições imunológicas em que o paciente se encontra ou de seu histórico de infecções prévias, podendo identificar infecções ativas. Por fim, o uso de técnicas de amplificação do alvo (p.ex., reação em cadeia da polimerase [PCR]) proporciona uma excelente sensibilidade, permitindo a detecção de até mesmo um único organismo em uma amostra biológica (Tabela 71-4).



Exemplos de Técnicas para Detecção de Infecções Parasitárias com Base em Análises de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Micro- organismo	Gene	Sensibilidade do Alvo (%)	Comentário
Plasmodium vivax	Gene do circunsporozoíto	91–96	São utilizadas amostras de gotas de sangue secas em papel filtro
Espécies de <i>Leishmania</i>	Sequência de minicírculo kDNA	87–100	Os resultados são comparados com cultura e microscopia de amostras de biópsia
Trypanosoma cruzi	Sequência de minicírculo kDNA	100	Os resultados são comparados com sorologia e xenodiagnóstico de amostras de sangue
Toxoplasma gondii	Gene <i>B1</i> repetitivo Antígeno de superfície principal P30 Sequências de DNA recombinante	46–99	PCR de LBA, sangue, líquido cefalorraquidiano e líquido amniótico apresentam grande potencial para diagnóstico da toxoplasmose
Entamoeba histolytica	Sequência de repetição em <i>tandem</i> P145 SSU RNAr	96 > 90	Os resultados são comparados com o diagnóstico microscópico de amostras de fezes. O teste pode distinguir cepas patogênicas de não patogênicas

LBA, lavado broncoalveolar; PCR, Reação em cadeia da polimerase; SSU RNAr, subunidade pequena de RNA ribossômico.

Os métodos baseados em ácidos nucleicos podem ser utilizados para detectar parasitas não apenas em amostras clínicas de sangue, fezes ou tecidos de pacientes infectados, mas também em seus vetores naturais. A aplicação do *fingerprinting* de DNA permite a identificação precisa do parasita ao nível de cepa ou subespécies, e tem um valor considerável em estudos epidemiológicos. Ensaios que utilizam sondas de ácido nucleico vão desde métodos de *dot blot* e hibridização *Southern* até hibridização *in situ* em tecidos por PCR ou outros métodos de amplificação alvo associados às rápidas detecção e caracterização do amplicon. O uso de técnicas de marcação não isotópica do DNA aumenta o potencial de aplicabilidade desses ensaios no mundo inteiro. *Kits* diagnósticos baseados nesses métodos não estão amplamente disponíveis; no entanto, foi recentemente aprovada pela U.S. Food and Drug Administration uma plataforma direta a partir de espécimes, disponível comercialmente, que emprega PCR multiplex e análise de curva de fusão pós-PCR, para a detecção nas fezes de *E. histolytica, Giardia, Cyclospora* e *Cryptosporidium* (FilmArray Gastrointestinal Panel, BioFire, Salt Lake City, UT).

Independentemente do formato do ensaio, as sondas e técnicas de amplificação de ácidos nucleicos estão sendo usadas hoje em dia em pesquisa para detecção e identificação de numerosas espécies e variedades, incluindo as de *Plasmodium* e *Leishmania*, *T. cruzi*, *E. histolytica*, *Cryptosporidium* e *T. gondii* (Tabela 71-4). Deve-se entender que a aplicação dos métodos de hibridização de ácido nucleico para o diagnóstico de doenças parasitárias está no início. A utilização disseminada dessas técnicas necessita de maior desenvolvimento de procedimentos simples para o manuseio e preparo das amostras e precisará passar extensivamente por testes clínicos e de campo antes de esses ensaios serem amplamente empregados como auxiliares do diagnóstico clínico.

Cultivo

Apesar de o cultivo ser o padrão para o diagnóstico da maioria das doenças infecciosas, não é comumente utilizado no laboratório de parasitologia. Certos protozoários parasitas (p.ex., *T. vaginalis, E. histolytica, Acanthamoeba spp., N. fowleri, Leishmania* spp., *Plasmodium falciparum, T. cruzi*, e *T. gondii*) podem ser cultivados com relativa facilidade. Entretanto, o cultivo de outros parasitas não tem sido bem-sucedido, ou é muito difícil e laborioso para ter um valor prático nos esforços do diagnóstico de rotina.

Inoculação em Animais

A inoculação em animais é um meio sensível de detectar uma infecção causada por parasitas do sangue e dos tecidos, como *T. b. gambiense, T. b. rhodesiense, T. cruzi, Leishmania* spp. e *T. gondii*. Apesar de útil, essa abordagem não é prática para a maioria dos laboratórios de diagnóstico e é largamente confinada aos cenários de pesquisa.

Xenodiagnóstico

A técnica de xenodiagnóstico emprega o uso de vetores artrópodes produzidos em laboratório para detectar baixos níveis de parasitas em indivíduos infectados. Classicamente, essa abordagem era usada no diagnóstico da doença de Chagas, fazendo com que um barbeiro não infectado se alimentasse em um indivíduo com suspeita de ter a doença. Subsequentemente, o barbeiro era dissecado e examinado microscopicamente para observar a presença de estágios do desenvolvimento de *T. cruzi*. Embora esta técnica possa ser usada em áreas endêmicas, é óbvio que não é prática para a maioria dos laboratórios de diagnóstico.

Referências Bibliográficas

Branda JA, Lin TY, Rosenberg ES, et al. A rational approach to the stool ova and parasite examination. Clin Infect Dis. 2006;42:972–978.

Buss SN, Leber A, Chapin K, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray Gastrointestinal Panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol*. 2015;53:915–925.

Garcia LS, Schimizu RY, Bernard CN. Detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*/Entamoeba dispar, and *Cryptosporidium* parvum antigens in human fecal specimens using the Triage Parasite Panel enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol*. 2000;38:3337–3340.

Garcia LS, Shimizu RY, Paltridge GP. General approaches for detection and identification of parasites. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Jones JL, Lopez A, Wahlquist SP, et al. Survey of clinical laboratory practices for parasitic diseases. *Clin Infect Dis.* 2004;38(Suppl 3):S198–S202.

McHardy IH, Wu M, Shimizu-Cohen R, et al. Detection of intestinal protozoa in the clinical laboratory. J Clin Microbiol. 2014;52:712–720.

Murray CK, Gasser Jr RA, Magill AJ, et al. Update on rapid diagnostic testing for malaria. Clin Microbiol Rev. 2008;21:97–110.

Polage CR, Stoddard GJ, Rolfs RT, et al. Physician use of parasite tests in the United States from 1997 to 2006 and in a Utah Cryptosporidium outbreak in 2007. *J Clin Microbiol*. 2011;49:591–596.

Rosenblatt JE. Laboratory diagnosis of infections due to blood and tissue parasites. Clin Infect Dis. 2009;49:1103-1108.

Shimizu R, Grimm F, Garcia LS, et al. Specimen collection, transport, and processing: parasitology. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Stensvold CR, Lebbad M, Verweij JJ. The impact of genetic diversity in protozoa on molecular diagnosis. Trends Parasitol. 2011;27:53–58.

Verweij JJ, Stensvold CR. Molecular testing for clinical diagnosis and epidemiological investigations of intestinal parasitic infections. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:371–418.

CAPÍTULO 72

Agentes Antiparasitários

A abordagem quimioterápica para o controle de doenças infecciosas claramente tem causado alterações na face da medicina. Infelizmente, poucos agentes anti-infecciosos que demonstraram eficácia contra bactérias patogênicas foram bem-sucedidos contra parasitas. Muitas vezes, os clínicos continuam recorrendo aos agentes antiparasitários da era pré-antibióticos. Esses e alguns outros novos agentes permanecem limitados quanto à eficácia e são relativamente tóxicos. Muitos agentes antiparasitários requerem administração prolongada ou parenteral, podendo ser eficientes apenas em certos estágios de uma doença. Felizmente, dos muitos novos agentes que apareceram nos últimos 5 a 10 anos, vários constituem avanços significativos no tratamento das doenças parasitárias. Em cada caso, os fármacos previamente disponíveis eram tóxicos e muitas vezes ineficazes.

Em grande parte, as dificuldades no tratamento das doenças parasitárias se originam do fato de os parasitas serem organismos eucarióticos e, por isso, mais semelhantes ao hospedeiro humano que as bactérias patogênicas procarióticas cujo tratamento é bem-sucedido. Além disso, a infecção crônica de curso prolongado, os ciclos biológicos complexos e os vários estágios de desenvolvimento de muitos parasitas são fatores que dificultam uma intervenção quimioterápica efetiva. Em países pobres de recursos, onde a maioria das doenças parasitárias ocorre, fatores agravantes adicionais incluem: (1) a existência de infecções múltiplas e a probabilidade elevada de reinfecção; (2) o grande número de pessoas com comprometimento imunológico devido à desnutrição e à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana; e (3) a influência esmagadora da pobreza e de condições sanitárias precárias que facilitam a transmissão de muitas infecções parasitárias. Apesar de as abordagens quimioterápicas poderem ser usadas efetivamente para tratar e prevenir muitas infecções parasitárias, alguns agentes apresentam efeitos colaterais ou eventualmente encontram resistência (microbiana e social). A maioria dos agentes antiparasitários é muito cara para ser usada amplamente em países pobres de recursos. Por isso, a abordagem global para prevenção e tratamento das doenças parasitárias deve envolver várias estratégias, incluindo melhorias de higiene e saneamento, controle dos vetores das doenças, vacinação, caso esteja disponível (grande indisponibilidade para doenças parasitárias), e administração de quimioterapia segura e eficiente para fins profiláticos e terapêuticos. Notavelmente, a quimioterapia de larga escala administrada uma a três vezes por ano em regiões endêmicas tem reduzido a transmissão (e as taxas de morbidade e mortalidade) de certas infecções, como filaríase linfática, oncocercíase, esquistossomose e as causadas por nematoides intestinais. Atualmente, essas estratégias também devem incluir esforços para diminuir a transmissão da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana.

Alvos para a Ação de Fármacos Antiparasitários

Como organismos eucarióticos, os parasitas apresentam mais similaridades que diferenças em relação ao homem. Consequentemente, muitos agentes antiparasitários atuam em vias (síntese de ácido nucleico, metabolismo de carboidratos) ou alvos (função neuromuscular) compartilhados pelo parasita e seu hospedeiro. Por essa razão, o desenvolvimento de fármacos antiparasitários seguros e eficazes com base nas **diferenças bioquímicas** existentes entre o parasita e o hospedeiro tem sido difícil. A **toxicidade diferencial** comumente é alcançada por meio de ingestão preferencial, alteração metabólica do fármaco pelo parasita ou diferenças na suscetibilidade de pontos funcionalmente equivalentes no parasita e no hospedeiro. Felizmente, conforme nosso conhecimento sobre biologia básica e bioquímica de parasitas e sobre mecanismos de ação de agentes antimicrobianos tem aumentado, nossa capacidade de reconhecer alvos parasito-específicos em potencial também tem melhorado. Cada vez mais, pesquisadores estão explorando projetos de genoma recém-concluídos de protozoários parasitas a fim de identificar potenciais alvos a fármacos para a triagem em larga escala. Exemplos de estratégias que exploram as diferenças entre parasita e hospedeiro são fornecidos na Tabela 72-1. A discussão mais detalhada será feita conforme os agentes específicos forem tratados.



Estratégias Quimioterápicas que Exploram as Diferenças entre Parasita e Hospedeiro

Único Ponto de Ataque	Fármaco	Micro-organismo
Mecanismo de concentração do fármaco único ao parasita	Cloroquina	Espécies de Plasmodium
Via do ácido fólico (o parasita não é capaz de utilizar folato exógeno)	Pirimetamina ou trimetoprim- sulfametoxazol	Espécies de <i>Plasmodium</i> ou de <i>Toxoplasma</i>
Inibidor dos mecanismos dependentes de tripanotiona para redução de grupos tiol oxidados	Arsênicos, difluorometilornitina	Tripanossomos
Interferência em neuromediadores únicos aos parasitas	Pamoato de pirantel, dietilcarbamazina	Espécies de Ascaris
Interage com os canais de cloreto, resultando em hiperpolarização das células, paralisia e morte dos parasitas	Ivermectina	Filária
Interação com tubulina, única aos parasitas	Benzimidazóis	Muitos helmintos
Inibição da topoisomerase II	Pentamidina	Tripanossomos
Inibição da piruvato ferrodoxina oxirredutase	Nitazoxanida	Cryptosporidium e Giardia

Resistência a Fármacos

A resistência aos agentes antimicrobianos é uma importante consideração no tratamento de infecções que resultam de patógenos bacterianos e fúngicos e certamente desempenha um papel na quimioterapia das doenças parasitárias. Infelizmente, nossa compreensão das bases genéticas e moleculares da resistência à maioria dos agentes antiparasitários ainda é limitada. O maior entendimento da epidemiologia e dos mecanismos de resistência aos fármacos pode fornecer uma orientação valiosa para uma melhor utilização dos compostos existentes e para o desenvolvimento de novos agentes. O uso de marcadores moleculares de resistência a medicamentos adicionou outra dimensão para os esforços de vigilância e gerou uma melhor compreensão sobre a propagação global da resistência aos medicamentos em ambos, protozoários e helmintos. Marcadores moleculares têm sido identificados para resistência do Plasmodium falciparum à cloroquina, sulfadoxinapirimetamina, atovaquona-proguanil, e, em um grau limitado, outros antimaláricos. Para a cloroquina e a sulfadoxinapirimetamina, estes envolvem polimorfismos de nucleotídeo único em genes que codificam uma proteína vacuolar transportadora da membrana e enzimas envolvidas na síntese de ácido fólico, respectivamente. Parasitas que tenham desenvolvido tanto a resistência à cloroquina como à sulfadoxina-pirimetamina e, posteriormente, a um terceiro medicamento operacional são denominados "multimedicamento-resistentes" (MDR). Os pacientes infectados por plasmódio que contém o aumento do número de cópias de pfmdr1 (gene de P. falciparum MDR 1), que codifica Pfgh1, uma suposta bomba de transporte, foram vistos como tendo uma reduzida resposta à mefloquina, quinina, lumefantrina e a combinações baseadas em artemisinina contendo esses fármacos. Mais recentemente, o gene pfmrp (proteína associada à MDR) foi associado ao efluxo de medicamentos em parasitas cultivados, e polimorfismos de um único nucleotídeo no gene pfmrp foram observados em infecções recorrentes após o tratamento com artemeter-lumefantrina. A resistência em P. falciparum ao componente atovaquona de atovaquona-proguanil é mapeada para o mesmo locus que determina a resistência à atovaquona em Pneumocystis jirovecii. Tais esforços têm levado a novos estudos e melhorado a compreensão dos mecanismos de resistência a fármacos em Trichomonas (metronidazol), Leishmania (antimoniais pentavalentes), tripanossomos africanos (melarsoprol, pentamidina) e esquisitossomos (oxamniquina). Novas ideias sobre os mecanismos de ação e resistência aos agentes antiparasitários são necessárias para otimizar a eficiência da quimioterapia antiparasitária.

Agentes Antiparasitários

Embora o número de agentes antiparasitários seja pequeno em relação ao vasto arsenal de agentes antimicrobianos, a lista está se expandindo (Tabela 72-2). Certamente, em muitos casos, o objetivo da terapia antiparasitária é semelhante ao da terapia antimicrobiana para erradicar o organismo rápida e corretamente. Entretanto, em muitos casos os agentes e regimes de tratamento utilizados para as doenças parasitárias são designados apenas para diminuir a carga de parasitas, para prevenir complicações sistêmicas da infecção crônica, ou ambas as ações. Dessa maneira, os objetivos da terapia antiparasitária, particularmente conforme empregada em áreas endêmicas, podem ser diferentes daqueles considerados em geral para a terapia da infecção microbiana nos Estados Unidos ou em outros países em desenvolvimento. Devido à significativa toxicidade de muitos desses agentes, a necessidade do tratamento deve ser, em cada caso, sempre confrontada contra a toxicidade do fármaco. Muitas vezes, a decisão de não realizar a terapia pode estar correta, em particular quando o fármaco pode causar efeitos adversos graves.

Mecanismo de Ação e Indicações Clínicas para os Principais Agentes Antiparasitários

Classe do Fármaco	Mecanismo de Ação	Exemplos	Indicações Clínicas	
Agentes Antipro	tozoários			
Metais pesados: arsênicos e antimoniais	Inativam grupos sulfidril; interrompem a glicólise	Melarsoprol, estibogluconato de sódio, antimoniato de meglumina	Tripanossomíase, leishmaniose	
Análogos de aminoquinolina	Acumulam-se nas células parasitadas; interferem na replicação do DNA; ligam-se à ferriprotoporfirina IX; elevam o pH intravesicular; interferem na digestão da hemoglobina	Cloroquina, mefloquina, quinina, primaquina, halofantrina, lumefantrina	Profilaxia e terapia da malária Cura radical (somente primaquina exoeritrocítica)	
Antagonistas de ácido fólico	Inibem a di-hidropteroato sintetase e a di-hidrofolato redutase	Sulfonamidas, pirimetamina, trimetoprim	Toxoplasmose, malária, ciclosporíase	
Inibidores da síntese proteica	Bloqueiam a síntese de peptídeos ao nível do ribossomo	Clindamicina, espiramicina, paromomicina, tetraciclina, doxiciclina	Malária, babesiose, amebíase, criptosporidiose, leishmaniose	
Diamidinas	Ligam-se ao DNA; interferem no consumo e a função das poliaminas	Pentamidina	Pneumocistose, leishmaniose, tripanossomíase	
Nitroimidazóis	Incerto Interagem com o DNA; inibem o metabolismo da glicose; interferem na função mitocondrial	Metronidazol, benzonidazol, tinidazol	Amebíase, giardíase, tricomoníase, tripanossomíase americana (doença de Chagas)	
Nitrofuranos	Depleção de glutationa, tripanotiona e metalotionina Estresse oxidativo	Nifurtimox	Doença de Chagas, estágio tardio da tripanossomíase africana (T.b. gambiense)	
Sesquiterpenos	Reagem com o heme, causando danos por ação de radicais livres às membranas do parasita (artemisinas); inibem a metionina aminopeptidase tipo 2 (fumagilina); inibem a síntese de RNA e DNA (fumagilina)	Artemisinina, artemeter, artesunato Fumagilina	Malária (artemisinas)	
Análogo da ornitina	Inibe a ornitina decarboxilase; interfere no metabolismo das poliaminas	Difluorometilornitina	Tripanossomíase africana	
Análogo da fosfocolina	Rompimento das vias de sinalização de células e do metabolismo dos lipídios; induz a morte celular apoptótica	Miltefosina	Leishmaniose	
Acetanilida	Desconhecido	Furoato de diloxanida	Amebíase intestinal	
Naftilamina sulfatada	Inibe a <i>sn</i> -glicerol-3-fosfato oxidase e a glicerol-3-fosfato desidrogenase, causando diminuição da síntese de ATP	Suramina	Tripanossomíase africana	
Tiazolidas	Inibem a piruvato-ferredoxina oxirredutase	Nitazoxanida	Criptosporidiose, giardíase	
Agentes Anti-hel	lmínticos			
Benzimidazóis	Inibem a fumarato redutase; inibem o transporte de glicose; interrompem a função microtubular	Mebendazol, tiabendazol, albendazol	Anti-helmínticos de largo espectro: nematoides, cestoides	
Tetra- hidropirimidina	Bloqueia a ação neuromuscular; inibe a fumarato redutase	Pamoato de pirantel	Ascaríase, oxiúro, ancilostomídeos	

Classe do Fármaco	Mecanismo de Ação	Exemplos	Indicações Clínicas
Piperazinas	Causa paralisia neuromuscular; estimula as células fagocíticas	Piperazina, dietilcarbamazina	Infecções por <i>Ascaris</i> e oxiúro
Avermectinas	Bloqueiam a ação neuromuscular; hiperpolarizam células nervosas e musculares; inibem a reprodução de filárias	Ivermectina	Infecções filariais, estrogiloidíase, ascaríase e escabiose
Pirazinoisoquinolina	Agonista de cálcio Causa contrações musculares tetânicas; causa desintegração de tegumento; fornece sinergia com as defesas do hospedeiro	Praziquantel	Anti-helmíntico de amplo espectro: cestoides, trematódeos
Fenol	Despareamento da fosforilação oxidativa	Niclosamida	Cestoides intestinais
Quinolona	Alquilam o DNA; inibem a síntese de DNA, RNA e proteínas	Bitionol, oxamniquina	Paragonimíase, esquistossomose
Organofosforado	Anticolinesterase Bloqueia a ação neuromuscular	Metrifonato	Esquistossomose
Naftilamidina sulfatada	Inibe a glicerofosfato oxidase e desidrogenase	Suramina	Oncocercíase

ATP, Trifosfato de adenosina; DNA, ácido desoxirribonucleico; RNA, ácido ribonucleico.

Indivíduos com comprometimento imunológico apresentam um problema em particular relacionado com a quimioterapia antiparasitária. De um lado, a **profilaxia**, como a administrada na toxoplasmose, pode ser efetiva na prevenção da infecção. Todavia, uma vez que a infecção tenha se estabelecido, uma cura radical poderá não ser possível, e a **terapia supressora** poderá ser indicada. Em algumas doenças, como a criptosporidiose, uma terapia (curativa) efetiva não está facilmente disponível, e deve-se tomar cuidado para evitar toxicidade desnecessária ao se prestar assistência de suporte ao paciente.

O restante deste capítulo apresenta uma revisão sobre as principais classes de agentes antiprotozoários e anti-helmínticos. Esses e outros agentes antiparasitários, seus mecanismos de ação e suas indicações clínicas estão listados na Tabela 72-2. O tratamento de infecções específicas é discutido nos capítulos que tratam dos parasitas. As Referências Bibliográficas listam várias revisões excelentes para se obter informações mais completas e para discussão dos agentes antiparasitários disponíveis.

Agentes Antiprotozoários

Similares aos agentes antibacterianos e antifúngicos, os agentes antiprotozoários geralmente são direcionados a células jovens, em crescimento, que proliferam rapidamente. Os agentes mais comuns desse tipo atuam na síntese de ácidos nucleicos e de proteínas ou em vias metabólicas específicas (p.ex., metabolismo do folato) que são unicamente de protozoários parasitas.

Metais Pesados

Os metais pesados usados no tratamento de infecções parasitárias incluem arsênico (melarsoprol) e compostos de antimônio (estibogluconato de sódio, antimoniato de meglumina). Acredita-se que tais agentes possam oxidar grupos sulfidril de enzimas, que são catalisadores essenciais do metabolismo de carboidratos. O melarsoprol inibe a enzima piruvato quinase de parasitas, causando diminuição das concentrações de trifosfato de adenosina (ATP), piruvato e fosfoenolpiruvato. Os arsênicos também inibem a sn-glicerol 3-fosfato oxidase, que é necessária para a regeneração de nicotinamida adenina dinucleotídeo em tripanossomos, mas não é encontrada em células de mamíferos. Os antimoniais, estibogluconato de sódio e antimoniato de meglumina, inibem a enzima glicolítica fosfofrutoquinase e certas enzimas do ciclo de Krebs em organismos de *Leishmania*. Essas substâncias também parecem intervir no metabolismo da glutationa e da tripanotiona, resultando em aumento da sensibilidade dos organismos ao estresse oxidativo. Em cada situação, a inibição do metabolismo do parasita é **parasiticida**. Infelizmente, os compostos de metais pesados são tóxicos para o hospedeiro, assim como para o parasita. A toxicidade é maior para as células com maior atividade metabólica, como as células nervosas, tubulares renais, intestinais e células-tronco da medula óssea. Sua toxicidade diferencial e seu valor terapêutico estão grandemente associados ao aumento da ingestão pelo parasita e à sua intensa atividade metabólica.

Melarsoprol é o fármaco de escolha para a tripanossomíase com envolvimento do sistema nervoso central. Esse fármaco pode penetrar a barreira hematoencefálica e é efetivo em todos os estágios da tripanossomíase. Os compostos antimoniais são restritos ao controle da leishmaniose. O antimoniato de meglumina e o estibogluconato de sódio são agentes importantes para o tratamento da leishmaniose e são ativos contra todas as formas de doença. Quase sempre, é necessária uma terapia prolongada para casos de leishmaniose disseminada, sendo comum a ocorrência de recaídas. Apesar do uso mundial dos antimoniais para tratamento da leishmaniose por mais de 6 décadas com poucas evidências de resistência, a aquisição de resistência tem se tornado um problema clínico nos últimos 10 anos. Essa resistência está unicamente associada a *Leishmania donovani*, que causa leishmaniose visceral na região hiperendêmica de Bihar, Índia. O mecanismo de resistência

não é completamente conhecido, mas parece envolver a ativação de uma bomba de efluxo na membrana plasmática do organismo, levando ao transporte do fármaco para fora das células.

Derivados de Quinolina

Os derivados de quinolina incluem as 4-aminoquinolinas (cloroquina), os alcaloides (quinina, quinidina), as 8-aminoquinolinas (primaquina) e os compostos sintéticos de quinolina (mefloquina, halofantrina, lumefantrina). Todos esses compostos apresentam atividade antimalárica e se acumulam preferencialmente em hemácias parasitadas. Vários mecanismos de ação em potencial têm sido propostos, incluindo: (1) ligação ao DNA e interferência na replicação do DNA; (2) ligação à ferriprotoporfirina IX liberada da hemoglobina de eritrócitos infectados, produzindo um complexo tóxico; e (3) aumento do pH em vesículas ácidas intracelulares do parasita, interferindo em sua habilidade para degradar a hemoglobina. A quinina, quinidina, as 4-aminoquinolinas e as quinolinas sintéticas destroem rapidamente o estágio eritrocítico da malária e, por isso, podem ser utilizadas **profilaticamente** para suprimir a doença clínica, ou **terapeuticamente** para interromper um ataque agudo. As 8-aminoquinolinas (p.ex., primaquina) se acumulam nas células dos tecidos e destroem os estágios extraeritrocíticos (hepáticos) da malária, resultando em cura radical da infecção.

A cloroquina permanece o fármaco de escolha para a profilaxia e o tratamento de cepas suscetíveis da malária. A cloroquina é ativa contra todas as cinco espécies de *Plasmodium* que infectam o homem (*P. falciparum*, *P. knowlesi*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*) e é bem tolerada, barata e efetiva quando administrada por via oral. Infelizmente, a resistência de *P. falciparum* à cloroquina é grande na Ásia e na América do Sul, limitando muito seu uso. A resistência de *P. vivax* à cloroquina também é observada em Papua, Nova Guiné, Ilhas Salomão, Indonésia e Brasil.

A quinina e a quinidina são primariamente utilizadas para tratar a infecção cloroquina-resistente por *P. falciparum*. Presumivelmente, estes fármacos também são ativos contra as raras cepas cloroquina-resistentes de *P. vivax*. A quinina é usada oralmente apenas no tratamento de ataques moderados e por via intravenosa no tratamento de ataques agudos de *P. falciparum* MDR. Ambas, quinina e quinidina, são tóxicas e o efeito parasiticida que exercem não ocorre rapidamente. Por isso, tais fármacos não devem ser administrados isoladamente, e sim combinados à sulfonamida ou à tetraciclina com atividade antimalárica.

A mefloquina é um agente antimalárico 4-quinolinametanol usado na profilaxia e no tratamento da malária por *P. falciparum*. Esse fármaco apresenta um grau de atividade elevado contra a maioria dos parasitas cloroquina-resistentes. Infelizmente, cepas de malária falcípara resistentes à mefloquina têm sido relatadas no sudeste da Ásia e na África.

A halofantrina é um composto sintético de fenantreno-metanol com eficácia comprovada no tratamento da malária causada por *P. vivax* e *P. falciparum*. Devido à sua toxicidade, não é recomendada para a profilaxia da malária. A holofantrina é mais ativa que a mefloquina, porém entre elas ocorre resistência cruzada. É considerada a segunda escolha para o tratamento da malária por conta de seu custo elevado e da toxicidade.

A lumefantrina também é um composto fenantreno-metanol que está disponível apenas como uma formulação fixa, combinado com artemetro. Estudos recentes do Camboja levantaram a possibilidade da diminuição da eficácia artemetro-lumefantrina, com taxas de falhas do tratamento da infecção por *P. falciparum* entre 15% e 30%. Estudos estão em andamento para determinar os fatores que contribuem para isso.

Antagonistas de Ácido Fólico

Semelhantes a outros organismos, protozoários parasitas precisam de ácido fólico para a síntese de ácidos nucleicos, basicamente DNA. Protozoários são incapazes de absorverem folato exógeno e, devido a isso, são sensíveis a fármacos que inibem a síntese dessa molécula. Os **antagonistas** de ácido fólico úteis no tratamento das infecções causadas por protozoários incluem as diaminopirimidinas (pirimetamina e trimetoprim) e as sulfonamidas. Tais compostos bloqueiam fases isoladas da via do ácido fólico. As sulfonamidas inibem a conversão do ácido aminobenzoico a ácido di-hidropteroico. As diaminopirimidinas inibem a di-hidrofolato redutase, bloqueando efetivamente a síntese de tetra-hidrofolato, um precursor necessário à formação de purinas, pirimidinas e certos aminoácidos. Esses agentes são efetivos em concentrações muito abaixo da concentração necessária para inibir a enzima em mamíferos, de forma a se conseguir seletividade. Quando uma diaminopirimidina é utilizada com sulfonamida, um **efeito sinergístico** é alcançado por meio do bloqueio de dois estágios da mesma via metabólica, resultando em uma inibição muito eficiente do crescimento do protozoário.

A diaminopirimidina trimetoprim é usada com sulfametoxazol no tratamento da toxoplasmose. Outra diaminopirimidina, a pirimetamina, tem alta afinidade pela di-hidrofolato redutase de esporozoários e tem sido muito eficiente quando combinada à sulfonamida no tratamento da malária e da toxoplasmose. A resistência aos antifolatos é devida a mutações pontuais específicas no ponto ativo da di-hidrofolato redutase do parasita, sendo restrita a espécies de plasmódios.

Inibidores da Síntese de Proteínas

Vários antibióticos que inibem a síntese de proteínas em bactérias também apresentam atividade antiparasitária *in vitro* e *in vivo*. Tais agentes incluem clindamicina, tetraciclina e doxiciclina.

A clindamicina e as tetraciclinas são ativas contra espécies de *Plasmodium*, espécies de *Babesia* e amebas. A doxiciclina é usada na quimioprofilaxia da infecção por *P. falciparum* cloroquina-resistente. A clindamicina pode ser útil no tratamento da toxoplasmose do sistema nervoso central. A espiramicina é recomendada como uma alternativa aos antifolatos no tratamento da toxoplasmose. Embora a espiramicina pareça ser ativa contra espécies de *Cryptosporidium in vitro*, não tem

sido eficiente em termos clínicos contra a criptosporidiose humana. Estudos recentes sugerem que a paromomicina, um aminoglicosídeo mais antigo, pode apresentar efeitos ao menos parcialmente efetivos no tratamento da criptosporidiose. A paromomicina, cuja absorção não ocorre sistemicamente, também é usada como fármaco secundário na amebíase e na giardíase. Recentemente, tem sido demonstrado que o tratamento do parasita filarial *Onchocerca volvulus* com doxiciclina causa inibição do desenvolvimento do verme, bloqueia a embriogênese e a fertilidade e reduz a viabilidade. A atividade de doxiciclina sobre esse organismo é devido à sua ação sobre o simbionte bacteriano *Wolbachia*, que é parte integrante da biologia do parasita e da patogênese da doença.

Diamidinas

A pentamidina, uma diamidina, é um agente relativamente tóxico. A pentamidina é um policátion e pode interferir no DNA, ou no consumo e função das poliaminas.

A pentamidina é eficiente no tratamento das formas teciduais de leishmânia e nas formas iniciais (pré-sistema nervoso central) da tripanossomíase africana. A pentamidina não penetra no sistema nervoso central e não tem utilidade nos estágios mais tardios da infecção por *Trypanosoma brucei gambiense*. A pentamidina também pode inibir a atividade da topoisomerase II do cinetoplasto e pode atuar contra tripanossomos, em parte, por meio desse mecanismo.

Nitroimidazóis

Os nitroimidazóis incluem o conhecido agente antibacteriano metronidazol, assim como o benzonidazol e o tinidazol. O mecanismo de ação desses compostos é desconhecido. Sugeriu-se que eles inibem a síntese de DNA e de RNA, bem como o metabolismo da glicose, e interferem na função mitocondrial. O metronidazol se liga a resíduos de guanina e citosina do parasita, causando a perda da estrutura helicoidal e a quebra dos filamentos de DNA.

Os nitroimidazóis apresentam uma excelente penetração nos tecidos do corpo e por isso são em particular eficientes no tratamento da amebíase disseminada. O metronidazol é o fármaco de escolha para a tricomoníase e é efetivo no tratamento da giardíase. O benzonidazol é usado para o tratamento da doença de Chagas aguda e pode ter benefícios sobre a doença crônica também. Parecendo ser mais eficaz e menos mutagênico que o metronidazol, o tinidazol foi recentemente aprovado pelo U.S. Food and Drug Administration (FDA), para o tratamento da amebíase, giardíase e tricomoníase vaginal.

Sesquiterpenos

Os sesquiterpenos são agentes antimicrobianos representados pelas artemisininas, artemetro e artesunato. Esses agentes reagem com a porção heme, causando **dano por radicais livres** às membranas do parasita. As artemisininas são os compostos antimaláricos disponíveis mais ativos e produzem uma redução fracionada na biomassa do parasita de aproximadamente 10⁴ por ciclo assexuado. As artemisininas são eficazes contra trofozoítos jovens e também contra esquizontes em maturação, tanto de *P. vivax* como de *P. falciparum*, que são estágios menos suscetíveis a quinolinas ou ao quinino. Os trofozoítos jovens de estágio mais prematuro são eliminados imediatamente (dentro de 6 a 12 horas) após a exposição às artemisininas. Os derivados destas também apresentam a vantagem de reduzir gametócitos e, assim, a transmissão. Esses agentes são muito eficientes quando utilizados em combinação com a mefloquina, halofantrina ou lumefantrina no tratamento da malária grave, incluindo a malária causada por *P. falciparum* MDR. Tratamentos com base em combinações com artemisininas têm sido considerados a melhor terapia para malária falcípara atualmente, combinando compostos não relacionados com diferentes agentes moleculares (e, por isso, com diferentes potenciais mecanismos de resistência), retardando, assim, o surgimento de resistências. É de interesse a aparente eficácia de mefloquina-artesunato no tratamento da esquistossomose, uma infecção helmíntica.

Atovaquona-Proguanil (Malarone®)

A atovaquona é uma hidroxinaftoquinona e o proguanil é um antifolato. A combinação desses dois agentes, Malarone®, é usada na profilaxia e no tratamento da malária. A atovaquona inibe o sistema de transporte de elétrons na mitocôndria dos parasitas, bloqueando a síntese de ácido nucleico e causando inibição da replicação. O proguanil causa inibição seletiva da di-hidrofolato redutase plasmidial, porém, quando combinado à atovaquona, diminui diretamente a concentração efetiva com a qual esta induz o colapso do potencial de membrana mitocondrial. O Malarone® é eficiente contra todos os estágios de desenvolvimento de *P. falciparum* e é recomendado para profilaxia e tratamento da malária falcípara. Esse fármaco também é ativo contra os estágios eritrocíticos de *P. vivax* e *P. ovale*, apresentando boa eficácia no tratamento de infecções por *P. malariae*. Existem poucos relatos de falha clínica e resistência de isolados de *P. falciparum* ao Malarone® associadas a uma mutação em um único gene.

Miltefosina

A miltefosina é um análogo de fosfocolina oral usado no tratamento da leishmaniose visceral. Esse composto se tornou cada vez mais importante devido ao aumento progressivo da resistência de cepas de *Leishmania* aos antimoniais pentavalentes. A miltefosina interfere com a sinalização celular, parece atuar sobre as enzimas-chave envolvidas no metabolismo de lipídios de éter presentes na superfície de parasitas, e induz a morte celular por apoptose, embora ainda sejam desconhecidos os mecanismos exatos de sua ação parasiticida. A miltefosina é ativa contra cepas de *L. donovani* tanto resistentes como suscetíveis aos antimoniais e tem apresentado um índice de cura de 94% a 97% em 6 meses em pacientes com leishmaniose visceral. A resistência se deve a uma diminuição na recaptação do fármaco. Além de *Leishmania* spp., a miltefosina tem

atividade contra *Trypanosoma cruzi, T. brucei, Entamoeba histolytica* e *Acanthamoeba* spp. A miltefosina foi aprovada em 2014 pela FDA para o tratamento das formas visceral, mucocutânea e cutânea de leishmaniose.

Nitazoxanida

A nitazoxanida é um novo derivado do 5-nitrotiazol com amplo espectro de atividade contra numerosos protozoários e helmintos intestinais. Esse fármaco inibe a enzima piruvato ferredoxina oxidorredutase, que é essencial ao metabolismo energético anaeróbio em protozoários e também em bactérias anaeróbias. Seu mecanismo de ação contra helmintos é desconhecido. A nitazoxanida está licenciada nos Estados Unidos para o tratamento de criptosporidiose e giardíase em indivíduos imunocompetentes mais velhos que 12 meses. Também tem mostrado eficiência in vitro e/ou in vivo contra infecções causadas por muitos protozoários e helmintos entéricos, incluindo ancilostomídeos, Ascaris lumbricoides, Balantidium coli, Blastocystis hominis, Cyclospora cayetanensis, Cystoisospora belli, Echinococcus spp., E. histolytica, Fasciola hepatica, Hymenolepis nana, Taenia saginata, Trichomonas vaginalis e Trichuris trichiura.

Outros Agentes Antiprotozoários

Um número de agentes adicionais utilizados na terapia, seus mecanismos de ação (se conhecidos) e usos clínicos são listados na Tabela 72-2.

Agentes Anti-helmínticos

A estratégia para uso de fármacos anti-helmínticos é bem diferente daquela para uso dos fármacos utilizados no tratamento da maioria das infecções por protozoários. A maior parte dos fármacos anti-helmínticos é direcionada a organismos adultos **não proliferantes**, enquanto no caso dos protozoários, os alvos na maioria das vezes são células mais jovens, que proliferam mais rapidamente. O ciclo de vida de um helminto com frequência é bem mais complexo, e a adaptação para sobrevivência no hospedeiro humano depende fortemente de (1) coordenação neuromuscular para realização de movimentos a fim de se alimentar e de se manter em um local favorável junto ao hospedeiro; (2) metabolismo de carboidratos como principal fonte de obtenção de energia, utilizando glicose como substrato principal; e (3) integridade microtubular, uma vez que a deposição e eclosão dos ovos, desenvolvimento das larvas, transporte de glicose e atividade enzimática e secreção ficam prejudicados quando os microtúbulos são modificados. A maioria dos agentes anti-helmínticos é direcionada a uma dessas funções bioquímicas no organismo adulto.

Os mecanismos de ação e as indicações clínicas para agentes anti-helmínticos comuns são listados na Tabela 72-2.

Benzimidazóis

Os bezimidazóis são agentes anti-helmínticos de amplo espectro e incluem mebendazol, tiabendazol, triclabendazol e albendazol. A estrutura básica desses agentes consiste em anéis de imidazol e benzeno ligados. Três mecanismos de ação foram propostos para os benzimidazóis: (1) inibição da fumarato redutase; (2) inibição do transporte de glicose, resultando em depleção de glicogênio, término da formação de ATP e paralisia ou morte; e (3) interrupção da função microtubular. Os benzimidazóis bloqueiam a montagem dos dímeros de tubulina em polímeros de tubulina em um processo mimetizado pela colchicina, uma poderosa medicamento antimitótica e embriotóxica. Como a tubulina é importante para a motilidade do parasita, fármacos como os benzimidazóis, que se ligam à tubulina do parasita, são considerados por agirem contra nematoides por meio da redução ou da eliminação de sua capacidade de motilidade.

Os benzimidazóis possuem amplo espectro de atividade, que inclui nematoides intestinais (Ascaris, Ancylostoma Trichuris, Necator spp.; Enterobius vermicularis), como vários cestoides e (Taenia, Hymenolepis e Echinococcus spp.). O triclabendazol é o agente de escolha na fasciolíase, sendo uma alternativa ao praziquantel na terapia da paragonimíase e de infecções intestinais por trematódeos. O mebendazol é ativo contra os nematoides e cestoides intestinais previamente listados. O tiabendazol é ativo contra uma variedade de nematoides, mas efeitos colaterais frequentes e graves têm limitado seu uso primário sistemático para o tratamento da estrongiloidíase. O albendazol possui um espectro semelhante ao do mebendazol e pode apresentar uma atividade maior contra espécies de Echinococcus. Além de seu amplo espectro de atividade anti-helmíntica, o albendazol também apresenta atividade contra espécies de Giardia. O albendazol está sendo cada vez mais usado em combinação tanto com a dietilcarbamazina quanto com a ivermectina no tratamento de filaríase e de loíase, sendo especialmente útil nessas infecções como parte de um regime de dose única em programas de quimioterapia em massa.

Tetra-hidropirimidinas

O pamoato de pirantel, uma tetra-hidropirimidina, é um agonista colinérgico que exerce efeito poderoso sobre as células musculares de nematoides ao se ligar a receptores colinérgicos, resultando na despolarização da célula e na contração muscular. Essa **ação paralisante** sobre nematoides intestinais leva à expulsão do verme do trato intestinal do hospedeiro.

O pamoato de pirantel não é prontamente absorvido a partir do intestino e é ativo contra espécies de *Ascaris*, oxiúro e ancilostomídeos. O pirantel pode ser utilizado em associação a um análogo, o oxantel, para proporcionar uma terapia efetiva para a infecção causada pelos três principais nematoides transmitidos pelo solo: espécies de *Ascaris*, ancilostomídeos e de *Trichuris*.

Piperazinas

A piperazina anti-helmíntica mais comumente utilizada é a dietilcarbamazina (DEC). DEC é sobretudo um agente microfilaricida que atua estimulando receptores colinérgicos e despolarizando células musculares, causando uma paralisia subsequente nos vermes. Entretanto, evidências sugerem que a piperazina aumenta a aderência dos leucócitos às microfilárias, e pode agir alterando a membrana da superfície do parasita ou estimulando diretamente as células fagocitárias.

A DEC é ativa contra filárias que produzem a "cegueira do rio" (O. volvulus) e a filaríase linfática (Wuchereria bancrofti e Brugia malayi), respectivamente. Infelizmente, a destruição das microfilárias nos tecidos pode aumentar a patologia do hospedeiro devido à resposta inflamatória aos antígenos do parasita liberados durante a exposição à DEC. Informação recente sugere que o tratamento de dose única com a DEC pode produzir efeitos antiparasitários semelhantes àqueles obtidos em cursos de 14 a 21 dias, sem a ocorrência dos efeitos colaterais graves observados com os regimes multidoses. Além de seu uso como terapia individual para infecções filariais, a DEC também é utilizada em programas de quimioterapia de massa comunitários, tanto isoladamente como combinada à ivermectina ou ao albendazol.

Avermectinas

A ivermectina, uma avermectina, atua por meio da interação com o canal de cloreto nas membranas celulares de nervos e músculos, resultando na hiperpolarização das células afetadas com consequentes paralisia e morte dos parasitas. O fármaco também inibe a função reprodutiva da fêmea adulta de *O. volvulus* e altera a habilidade das microfilárias desse parasita de escapar do sistema imune do hospedeiro.

Apesar de a ivermectina ser extensivamente utilizada para controlar infecções por nematoides que se alojam no intestino de animais domésticos e de fazenda, seu uso em humanos se limita primariamente ao tratamento das filaríases ocular e linfática. A ivermectina é efetiva no tratamento da estrongiloidíase, como de várias outras parasitoses causadas por nematoides intestinais, incluindo espécies de *Ascaris, Trichuris* e *Enterobius*. Quando utilizada no tratamento da filaríase, a ivermectina apresenta menos efeitos colaterais que a DEC, e uma única dose pode eliminar as microfilárias por até 6 meses. A ivermectina tem efeitos dramáticos sobre as microfilárias de *O. volvulus* que se fixam nos tecidos e é capaz de reduzir a gravidade da patologia ocular observada na oncocercíase. Graças à sua habilidade em promover uma diminuição marcante do número de microfilárias na pele de pessoas com oncocercíase, a ivermectina tem se mostrado eficiente na redução da transmissão dessa doença em áreas endêmicas.

Pirazinoisoquinolinas

O praziquantel, uma pirazinoisoquinolina, é um anti-helmíntico ativo contra um amplo espectro de trematódeos e cestoides. Esse fármaco é rapidamente consumido por helmintos sensíveis, nos quais atua com um **agonista de cálcio**. A entrada de cálcio em várias células resulta na elevação dos níveis intracelulares de cálcio, com contração muscular tetânica e destruição do tegumento. O praziquantel parece atuar junto com o sistema imune para produzir um efeito sinergístico anti-helmíntico. Tal fármaco causa a perda da integridade da superfície e do tegumento do parasita, permitindo que anticorpos ataquem os antígenos parasitários que via de regra não ficam expostos na superfície (Fig. 72-1). O dano irreversível ao parasita provavelmente ocorre quando o complemento ou os leucócitos do hospedeiro são recrutados para os pontos nos quais há ligação de anticorpos.

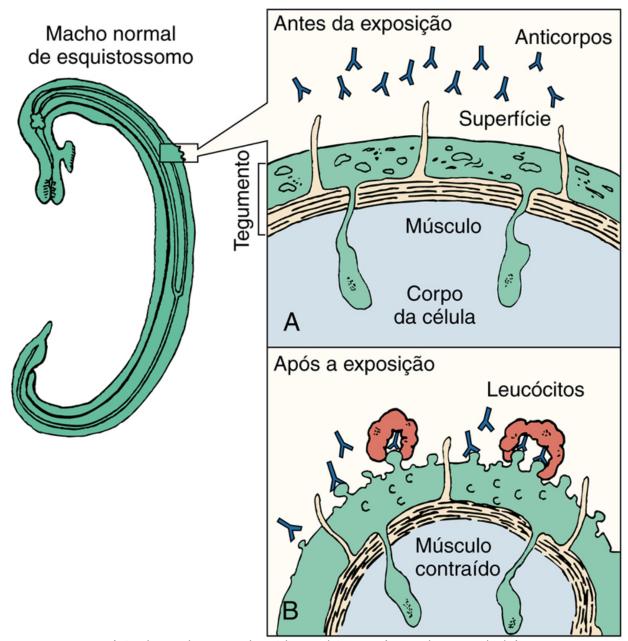


FIGURA 72-1 Antes da exposição ao praziquantel, o esquistossomo é capaz de escapar dos inúmeros anticorpos dirigidos à sua superfície e a antígenos localizados internamente. A, Corte de uma seção da face dorsal de um esquistossomo macho normal. Um a 2 segundos após a exposição ao praziquantel, os músculos do esquistossomo se contraem devido ao influxo de íons cálcio induzido pelo fármaco para dentro do tegumento. B, A alteração da permeabilidade da superfície do esquistossomo no sentido dos íons externos inicia o aparecimento de pequenos orifícios e estruturas semelhantes a balões, fazendo com que o parasita se torne vulnerável à aderência anticorpo-mediada dos leucócitos do hospedeiro para matá-lo. (De Wecker L, Crespo L, Dunaway G, et al: *Brody's human pharmacology: molecular to clinical*, ed 5, Philadelphia, 2010, Mosby.)

O praziquantel possui um espectro de atividade extremamente amplo contra trematódeos, incluindo espécies de *Fasciolopsis*, *Clonorchis*, *Opisthorchis*, *Paragonimus* e *Schistosoma*. Também é ativo contra cestoides, incluindo espécies de *Echinococcus*, *Taenia* e *Dipylidium*. O praziquantel é o fármaco de escolha para o tratamento da esquistossomose, clonorquíase, opistorquíase e infecções por trematódeos intestinais. Atualmente, existem evidências seguras de que o praziquantel reduz a hepatoesplenomegalia e a hipertensão portal na esquistossomose. A maioria das infecções por cestoides responde ao praziquantel, que também é utilizado no tratamento da neurocisticercose e das infecções equinocócicas, tanto sozinho como combinado com o albendazol.

Fenóis

A niclosamida, um fenol, é um anti-helmíntico não absorvível com atividade seletiva contra cestoides intestinais. O fármaco é absorvido por cestoides que ficam no intestino, mas não por nematoides. Atua desacoplando a fosforilação oxidativa na mitocôndria, o que leva à perda de ATP pelo helminto, que causa sua paralisação e permite sua eliminação juntamente com as fezes do hospedeiro. A niclosamida é eficiente no tratamento de cestoides intestinais em humanos e em animais.

Outros Agentes Anti-helmínticos

Agentes anti-helmínticos adicionais, incluindo a oxamniquina, metrifonato e suramina, são descritos na Tabela 72-2. Esses agentes geralmente são considerados secundários para o tratamento de infecções causadas por trematódeos (oxamniquina e metrifonato) e filárias (suramina).

Referências Bibliográficas

Abubakar I, Aliyu SH, Arumugam C, et al. Treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised individuals: systematic review and meta-analysis. *Brit J Clin Pharmacol*. 2007;63:387–393.

Baird JK. Resistance to therapies for infection by Plasmodium vivax. Clin Microbiol Rev. 2009;22:508-534.

Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. Clin Microbiol Rev. 2006;19:111-126.

Edwards G, Krishna S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of parasitic infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004;23:233–242.

Gardner TB, Hill DR. Treatment of giardiasis. Clin Microbiol Rev. 2001;14:114–128.

Hastings I. How artemisinin-containing combination therapies slow the spread of antimalarial drug resistance. *Trends Parasitol.* 2011;27:67–72.

Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A. Control of neglected tropical diseases. N Engl J Med. 2007;357:1018–1027.

James CE, Hudson AL, Davey MW. Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest?. *Trends Parasitol*. 2009;25:328–335.

Leder K, Weller PF. Antiparasitic agents. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Lin JT, Juliano JJ, Wongsrichanalai C. Drug-resistant malaria: the era of ACT. Curr Infect Dis Rep. 2010;12:165–173.

Secor WE, Le Bras J. Mechanisms of resistance to antiparasitic agents. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Talisuna AO, Bloland P, D'Alessandro U. History, dynamics, and public health importance of malaria parasite resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2004;178:235–254.

Wecker L, Crespo L, Dunaway G, et al. Brody's human pharmacology: molecular to clinical. ed 5 Philadelphia: Mosby; 2010.

Protozoários Intestinais e Urogenitais

Uma veterinária de 31 anos reclamava de uma diarreia de 2 semanas de duração. Ela descreveu a diarreia como diluída, aquosa e sem sangue. Ela relatava uma frequência de 10 a 14 evacuações diarreicas por dia, a qual não era afetada por uma variedade de medicamentos antidiarreicos sem contraindicação. O exame físico revelou uma mulher bem desenvolvida e bem nutrida, que parecia um tanto fatigada e moderadamente desidratada. O exame médico completo incluiu um teste sorológico negativo para HIV, um exame de sigmoidoscopia flexível normal e uma cultura de fezes negativa para bactérias patogênicas. Um exame microscópico das fezes para detectar a presença de leucócitos resultou negativo, bem como um teste para toxina de *Clostridium difficile*. Uma amostra de fezes foi enviada para exame parasitológico de fezes e, depois de terem sido utilizados métodos de concentração adequados, foram demonstrados oocistos álcool-acidorresistentes.

- 1. Qual parasita foi encontrado nas fezes da paciente?
- 2. Qual poderia ser a fonte da infecção desse indivíduo?
- 3. Se esse indivíduo fosse HIV-positivo, quais outros patógenos intestinais deveriam ser considerados?
- 4. Além da microscopia convencional, quais outros métodos poderiam ter sido utilizados para diagnosticar essa infecção?
- 5. Essa paciente deveria ter recebido uma terapia antimicrobiana específica? Se sim, qual deveria ter sido prescrita? Caso não devesse, por quê?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Amebas

Palavras-gatilho

Protozoário, amebas, trofozoíto, cisto, amebíase intestinal, amebíase extraintestinal, amebíase hepática, úlcera em forma de frasco, *Entamoeba*

Biologia, Virulência e Doença

- Organismos unicelulares primitivos com um ciclo de vida simples de duas fases
- Motilidade alcançada através da extensão de um pseudópode ("falso pé")
- A maioria das amebas encontradas no ser humano são organismos comensais
- Organismos patogênicos humanos: Entamoeba histolytica (o mais importante), E. polecki

Epidemiologia

- *E. histolytica* encontra-se distribuída por todo o mundo, com incidência mais elevada nas regiões tropicais e subtropicais
- Em algumas áreas geográficas, até 50% da população encontra-se infectada (prevalência média, 10% a 15%); prevalência nos Estados Unidos situa-se entre 1% a 2%
- Muitos portadores assintomáticos; passam os cistos através das fezes (reservatório)
- A principal fonte de contaminação de alimentos e água são os portadores assintomáticos que fazem a transmissão dos cistos

Diagnóstico

- O exame microscópico das fezes permite a identificação de cistos e trofozoítos de E. histolytica
- Necessário diferenciar das espécies de amebas comensais e não patogênicas
- Testes sorológicos específicos podem confirmar o diagnóstico
- O exame da amostra de fezes pode ser negativo na amebíase extraintestinal
- Novas abordagens diagnósticas: antígeno fecal, PCR, sonda de DNA

Tratamento, Prevenção e Controle

· Amebíase aguda tratada com metronidazol, seguida de iodoquinol, furoato de diloxanida ou paromomicina

- O estado de portador pode ser erradicado com iodoquinol, furoato de diloxanida ou paromomicina
- A eliminação do ciclo de infecção requer a implantação de medidas de saneamento adequadas, de educação acerca das vias de transmissão, cloração e filtração dos abastecimentos de água
- Viajantes para países em desenvolvimento devem evitar o consumo de água (incluindo os cubos de gelo), evitar o
 consumo de frutos com casca e vegetais crus, devem ferver a água e limpar rigorosamente frutas e vegetais antes do
 consumo

Flagelados

Palavras-gatiho

Giardíase, tricomoníase, ovos de verme, riachos contaminados, teste de antígenos nas fezes, flagelos, montagem úmida, diarreia, deficiência de IgA

Biologia, Virulência e Doença

- Flagelados clinicamente importantes: Giardia duodenalis (lamblia/intestinalis), Dientamoeba fragilis, Trichomonas vaginalis
- O ciclo de vida da *Giardia duodenalis* possui tanto a fase de cisto quanto a fase de trofozoíto; *D. fragilis* possui uma fase de trofozoíto (fase de cisto nos camundongos); *T. vaginalis* possui apenas uma fase de trofozoíto
- A maioria dos flagelados movimenta-se por meio da batida de seus flagelos, que empurram o organismo através dos fluidos
- Infecção por *G. duodenalis* iniciada com a ingestão de cistos; portadores assintomáticos (50% dos indivíduos infectados); doença sintomática varia desde diarreia leve até uma síndrome de má absorção grave
- A maioria das infecções por D. fragilis é assintomática
- T. vaginalis causa infecções urogenitais
- As doenças produzidas pelos flagelados resultam da irritação mecânica e inflamação da mucosa gastrointestinal e genitourinária (*Trichomonas*)

Epidemiologia

- G. duodenalis possui distribuição por todo o mundo
- Giardíase adquirida pela via fecal-oral
- Fatores de risco para giardíase: condições sanitárias deficientes, viagens para áreas endêmicas, consumo de água tratada de forma inadequada, centros de cuidados diários, práticas sexuais oral-anal
- D. fragilis possui distribuição por todo o mundo; transmissão pelas vias fecal-oral e oral-anal
- T. vaginalis possui distribuição por todo o mundo; transmissão principal através do ato sexual

Diagnóstico

- Giardia pode ser detectada pelo exame microscópico de amostras de fezes ou aspirados duodenais
- Detecção de antígenos fecais de Giardia através de imunoensaios enzimáticos, microscopia por imunofluorescência
- Infecção com D. fragilis diagnosticada pelo exame microscópico de espécimes fecais
- Tricomoníase: exame microscópico de corrimento vaginal ou uretral

Tratamento, Prevenção e Controle

- Fármacos de eleição para o tratamento da giardíase (quer em pacientes portadores, quer em pacientes sintomáticos): metronidazol ou nitazoxanida; alternativas: furazolidona, tinidazol, paromomicina, albendazol, quinacrina
- A prevenção e controle da giardíase envolvem evitar água e alimentos contaminados
- Não existência de consenso sobre a melhor abordagem no tratamento de infecções por *D. fragilis*; a infecção pode ser evitada por condições de saneamento adequadas
- O fármaco de eleição para a tricomoníase é o metronidazol; algumas ações preventivas importantes englobam a higiene pessoal, evitar a partilha de artigos de higiene e vestuário e a prática de sexo seguro

Ciliados

Palavras-gatilho

Macronúcleo, fezes de porco, citostoma, cílios, úlceras intestinais

Biologia, Virulência e Doença

- Organismos protozoários cuja locomoção envolve movimentos coordenados de filas de estruturas semelhantes a cabelos (cílios)
- Cílios estruturalmente semelhantes aos flagelos, mas habitualmente mais curtos e numerosos
- Balantidium coli: parasita ciliado apenas no ser humano
- A doença causada por *B. coli* é semelhante à amebíase; os sintomas incluem dor abdominal, sensibilidade à dor, tenesmo, náuseas, anorexia, fezes líquidas com sangue e pus, úlceras da mucosa intestinal; infecção extraintestinal muito rara

Epidemiologia

- B. coli distribuída por todo o mundo; suínos e macacos constituem os reservatórios mais importantes
- Infecções transmitidas pela via fecal-oral
- Surtos associados à contaminação de abastecimento de água com fezes de porco
- A propagação de pessoa a pessoa tem sido implicada nos surtos
- Os fatores de risco incluem o contato com porcos e condições higiênicas precárias

Diagnóstico

• Exame microscópico de fezes para detecção de trofozoítos e cistos

Tratamento, Prevenção e Controle

- O fármaco de eleição é a tetraciclina; as alternativas incluem o iodoquinol e o metronidazol
- Medidas de prevenção importantes: higiene pessoal, manutenção das condições sanitárias, monitorização cuidadosa das fezes de porco

Esporozoários

Palavras-gatilho

Coccídios, oocisto, diarreia crônica, álcool acidorresistente, antígenos fecais, transmissão através da água, fruta e vegetais contaminados

Biologia, Virulência e Doença

- · Os esporozoários constituem um grupo muito grande de protozoários denominados Apicomplexa ou Coccidia
- Todos os esporozoários demonstram características típicas: reprodução assexuada (esquizogonia) e sexuada (gametogonia); partilham hospedeiros alternativos
- Esporozoários intestinais: Cystoisospora belli, Sarcocystis spp., Cryptosporidium spp., Cyclospora cayetanensis
- Cystoisospora belli: parasita coccídio do epitélio intestinal; causa a síndrome de má absorção
- *Sarcocystis* spp. podem ser detectadas em amostras de fezes; náuseas, dor abdominal e diarreia subsequentes à ingestão de carne infectada; podem ocorrer infecções musculares por ingestão de esporocistos
- *Cryptosporidium* spp. causam doença intestinal, habitualmente uma enterocolite autolimitada caracterizada por diarreia líquida sem sangue
- *Cyclospora:* doença autolimitada em hospedeiros imunocompetentes, mas prolongada em indivíduos infectados pelo HIV

Epidemiologia

- Organismos de *Cystoisospora* distribuídos por todo o mundo; doença frequente em pacientes com AIDS; aumento da frequência da notificação da infecção quer em pacientes saudáveis, quer em pacientes imunocomprometidos
- Sarcocystis spp. são isoladas a partir dos porcos e do gado
- Cryptosporidium spp. encontram-se distribuídas por todo o mundo
- *C. hominis* e *C. parvum* causam a maioria das doenças no ser humano; *C. ubiquitum* e *C. felis* estão a emergir como organismos patogênicos no ser humano
- *Cyclospora:* distribuição por todo o mundo; infecção adquirida através de água contaminada; surtos nos Estados Unidos correlacionados com o consumo de fruta e vegetais contaminados

Diagnóstico

- A infecção por Cystoisospora belli é diagnosticada pelo exame rigoroso do sedimento concentrado de fezes
- Os esporocistos de Sarcocystis spp. podem ser detectadas em espécimes de fezes humanas
- *Cryptosporidium* spp. podem ser detectadas em espécimes de fezes não concentradas de pacientes imunocomprometidos com diarreia
- O diagnóstico de ciclosporíase baseia-se na detecção microscópica de oocistos nas fezes
- Tanto a infecção por Cryptosporidium quanto a infecção por Cyclospora podem ser diagnosticadas por PCR

Tratamento, Prevenção e Controle

- *C. belli:* o tratamento de eleição é o trimetoprim-sulfametoxazol; a prevenção e controle são efetuados pela manutenção da higiene pessoal e saneamento e pela abstinência de atos sexuais oral-anal
- Sem tratamento conhecido para a sarcocistose intestinal ou muscular no ser humano
- Sem terapêutica globalmente eficaz para a abordagem de infecções por *Cryptosporidium* em pacientes imunocomprometidos
- A ciclosporíase tem sido tratada com um sucesso modesto usando trimetoprim-sulfametoxazol

Protozoários podem colonizar e infectar a orofaringe, o duodeno e o intestino delgado, cólon e o trato urogenital do homem. A maioria desses parasitas são amebas e flagelados, porém infecções por parasitas ciliados e coccídios também podem ser encontradas (Tabela 73-1). Esses micro-organismos são transmitidos pela via fecal-oral. Nos Estados Unidos, a

transmissão de protozoários intestinais é particularmente problemática em creches e asilos, onde vários episódios de diarreia causada por *Giardia* ou *Cryptosporidium* spp. são documentadas. Em outras partes do mundo, a disseminação das infecções por protozoários entéricos pode ser controlada parcialmente por meio de melhorias de saneamento e tratando os suprimentos de água com cloro e filtração. Entretanto, essas medidas podem ser difíceis ou impossíveis em muitos países em desenvolvimento.



Tabela 73-1

Identificação Morfológica de Entamoeba histolytica e Entamoeba coli.

	E. histolytica*	E. coli				
Tamanho (diâmetro, μm)						
Trofozoíta	12–50 μm	20–30 μm				
Cisto	10–20 μm	10–30 μm				
Padrão de cromatina nuclear periférica	Fino, anel disperso	Grosso, agrupado				
Cariossoma	Central, distinto	Excêntrico, grosseiro				
Eritrócitos ingeridos	Presentes	Ausentes				
Estrutura Cística						
Número de núcleos	1–4	1–8				
Corpos cromatoides	Extremidades arredondadas	Extremidades fragmentadas, pontiagudas				

^{*} E. histolytica é morfologicamente indistinguível das espécies comensais Entamoeba dispar, Entamoeba moshkovskii e Entamoeba bangladeshi.

Amebas

As amebas são micro-organismos **unicelulares** primitivos. O ciclo biológico delas é relativamente simples e está dividido em dois estágios: o estágio ativamente móvel de alimentação (trofozoíta) e o estágio quiescente, resistente e infectante (cisto). A replicação ocorre por fissão binária (há uma divisão do trofozoíta) ou por meio do desenvolvimento de numerosos trofozoítas dentro do cisto maduro multinucleado. A movimentação ocorre através da extensão de um **pseudópode** ("falso pé"), com extrusão do ectoplasma celular e o resto da célula sendo puxado em um movimento parecido com a movimentação de um caracol, seguindo o pseudópode. Os trofozoítas ameboides permanecem ativamente móveis enquanto o ambiente for favorável. A forma de cisto se desenvolve quando há queda da temperatura ou da umidade do ambiente.

A maioria das amebas encontradas no homem são organismos **comensais** (*Entamoeba coli, E. hartmanni, E. dispar, E. moshkovskii, E. gingivalis, Endolimax nana, Iodamoeba bütschlii*). Todavia, a *Entamoeba histolytica* é um importante patógeno humano. Outras amebas, particularmente *Entamoeba polecki*, podem causar doença no homem, mas raras vezes são detectadas. A patogenicidade de *Blastocystis* spp. ainda é controversa. Algumas amebas de vida livre (*Naegleria fowleri,* espécies de *Acanthamoeba*) estão presentes no solo, em pequenos reservatórios de água fresca e morna ou em piscinas, podendo ser patógenos oportunistas do ser humano, causando meningoencefalite ou ceratite (Cap. 74).

Entamoeba histolytica

Fisiologia e Estrutura

As formas císticas e trofozoíticas de *E. histolytica* são detectadas em amostras fecais de pacientes infectados (Fig. 73-1).Os trofozoítas também podem ser encontrados nas criptas do intestino grosso. Em fezes "líquidas ou diarreicas" frescas, podem ser observados trofozoítas ativamente móveis, ao passo que em fezes formadas quase sempre são encontrados apenas cistos. Para o diagnóstico da amebíase, é importante fazer a distinção entre trofozoítas e cistos de *E. histolytica* e de amebas comensais.

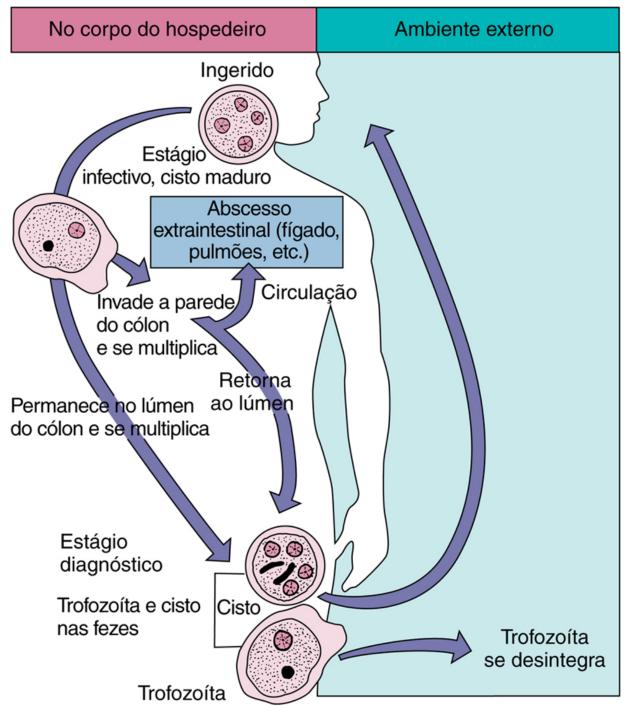


FIGURA 73-1 Ciclo de vida da Entamoeba histolytica.

Patogênese

Após a ingestão, os cistos passam pelo estômago, onde a exposição ao ácido gástrico estimula a liberação dos trofozoítas patogênicos no duodeno. Os trofozoítas se dividem e produzem uma extensa necrose local no intestino grosso. A base dessa destruição tecidual ainda não é completamente compreendida, embora seja atribuída à produção de uma citotoxina. A fixação dos trofozoítas de *E. histolytica* às células do hospedeiro através de uma proteína de adesão inibida por galactose é necessária para que ocorra citólise e necrose tecidual. A lise de células epiteliais do cólon, neutrófilos, linfócitos e monócitos do hospedeiro humano causada por trofozoítas é associada a uma alteração letal da permeabilidade da membrana plasmática nestas células, que resulta em aumento irreversível dos níveis de cálcio intracelular. A liberação dos constituintes tóxicos de neutrófilos após sua lise pode contribuir para a destruição do tecido. São observadas ulcerações em forma de frasco na mucosa intestinal com inflamação, hemorragia e infecção bacteriana secundária. Pode haver invasão profunda da mucosa que se estende para dentro da cavidade peritoneal. Em consequência, pode haver o envolvimento secundário de outros órgãos, primariamente o fígado, mas também dos pulmões, do cérebro e do coração. A amebíase extraintestinal está associada aos trofozoítas. As amebas são encontradas apenas em ambientes com baixa pressão de oxigênio, uma vez que protozoários não sobrevivem na concentração de oxigênio ambiental.

A ligação de lectina, as análises de zimodemo e do genoma do ácido desorribonucleico (DNA) e a coloração com anticorpos monoclonais específicos são utilizadas como marcadores para identificar cepas invasivas de *E. histolytica*. Hoje em dia, sabe-se que a ameba identificada morfologicamente como *E. histolytica* na verdade corresponde a quatro espécies

diferentes. A espécie patogênica é a *E. histolytica* e as não patogênicas são *E. dispar, E. moshkovskii* e *E. bangladeshi*. Os padrões de zimodemo e as diferenças bioquímicas, moleculares e imunológicas são estáveis e sustentam a existência das quatro espécies. É digno de nota que essas quatro espécies são indistinguíveis morfologicamente umas das outras.

Epidemiologia

A *E. histolytica* apresenta uma distribuição mundial. Apesar de ser encontrada em áreas frias, como Alasca, Canadá e Leste Europeu, sua incidência é maior em regiões tropicais e subtropicais que possuem condições sanitárias precárias e água contaminada. A prevalência média de infecção nessas áreas está entre 10% e 15%, e cerca de 50% da população está infectada em alguns locais. Muitos indivíduos infectados são portadores assintomáticos que constituem reservatórios para disseminação de *E. histolytica*. A prevalência da infecção nos Estados Unidos é de 1% a 2%.

Pacientes infectados com *E. histolytica* eliminam trofozoítas não infectantes e cistos infectantes nas fezes. Os trofozoítas não podem sobreviver no meio ambiente nem durante o transporte pelo estômago quando ingeridos. Por isso, a principal fonte de contaminação de água e comida é o portador assintomático que elimina os cistos. Isso é particularmente um problema em hospitais para doentes mentais, em acampamentos militares e de refugiados, prisões, creches e asilos lotados. Moscas e baratas podem servir de vetores mecânicos para a transmissão dos cistos de *E. histolytica*. Esgoto contendo cistos pode contaminar sistemas de água, poços, nascentes e áreas agrícolas onde dejetos humanos são utilizados como fertilizantes. Finalmente, os cistos podem ser transmitidos pela prática sexual oral-anal, e há prevalência de amebíase na população homossexual. A transmissão direta dos trofozoítas em relações sexuais pode produzir amebíase cutânea.

Síndromes Clínicas

O desfecho da infecção pode resultar em um estado de portador, de amebíase intestinal ou extraintestinal. Se a cepa de *E. histolytica* tem virulência baixa, se a concentração do inóculo é pequena ou se o sistema imunológico do paciente está intacto, os organismos podem se reproduzir e os cistos podem ser evacuados junto com as fezes sem a ocorrência de sintomas clínicos. Embora as infecções por *E. histolytica* possam ser assintomáticas, a maioria dos indivíduos assintomáticos está infectada com *E. dispar* ou *E. moshkovskii* não invasivas, conforme caracterizado por meio de padrões específicos de isoenzimas (zimodemos), ensaios baseados no DNA, suscetibilidade à lise mediada pelo complemento e incapacidade de aglutinação na presença da lectina concavalina A. A detecção de portadores de *E. histolytica* em áreas de baixa endemicidade tem importância para fins epidemiológicos.

Pacientes com amebíase intestinal desenvolvem sintomas clínicos relacionados com a destruição tecidual localizada no intestino grosso. Estes incluem dor abdominal, câimbras e colite com diarreia. A doença mais grave se caracteriza pela ocorrência de várias evacuações com sangue nas fezes por dia. Pacientes com amebíase extraintestinal apresentam sinais sistêmicos de infecção (febre, leucocitose, calafrios). Primeiramente, há o envolvimento do fígado, porque os trofozoítas presentes no sangue são removidos conforme passam por esse órgão. É comum haver formação de abscesso (Caso Clínico 73-1). O lobo hepático direito é o mais comumente envolvido. Observa-se dor sobre a região do fígado com hepatomegalia e elevação do diafragma.



Caso Clínico 73-1 Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e Abscessos

Amebianos no Fígado

Liu et al. (*J Clin Gastroenterol* 33:64-68, 2001) descreveram o caso de um homem homossexual de 45 anos, que desenvolveu amebíase intestinal e hepática. Inicialmente, o paciente apresentava febre intermitente seguida de dor no quadrante superior direito e diarreia. Na admissão ao hospital, ele estava febril, com uma elevada contagem sanguínea de leucócitos e com testes de função hepática alterados. Os exames de fezes resultaram positivos para sangue oculto e leucócitos. O paciente foi submetido à colonoscopia, na qual foram detectadas úlceras múltiplas e discretas no reto e no cólon. O diagnóstico de colite amebiana foi confirmado pela demonstração de numerosos trofozoítas ao exame histopatológico de amostras de biópsia do cólon. O exame com ultrassom do abdome revelou uma grande massa heterogênea junto ao fígado, compatível com um abscesso. A drenagem percutânea de pus (com aspecto de chocolate) obtido do abscesso e o exame de uma biópsia retirada de suas margens revelaram somente material necrótico, sem evidências da presença de amebas. Uma amplificação por PCR da subunidade 16S de RNAr obtida por aspiração resultou positiva, indicando infecção por *Entamoeba histolytica*. O paciente foi tratado com metronidazol seguido de iodoquinol para erradicar as amebas presentes no lúmen. A história subsequente revelou uma viagem à Tailândia 2 meses antes do aparecimento da doença. A sorologia para HIV foi positiva também. O paciente melhorou rapidamente com a terapia antiamebiana e foi liberado da terapia antirretroviral.

Embora os cistos de ameba sejam detectados com frequência em fezes de homens homossexuais, estudos prévios em países ocidentais sugeriram que quase todos os isolados eram da espécie não patogênica *E. dispar*, e a amebíase invasiva foi considerada rara em indivíduos HIV--positivos. Este caso ilustra o fato de que a amebíase invasiva, como abscessos hepáticos e colite, pode acompanhar a infecção por HIV. A possível associação de amebíase invasiva com infecção por HIV deve ser lembrada nos casos de pacientes que vivem ou viajaram para áreas onde *E. histolytica* é endêmica.

A identificação dos trofozoítas de *E. histolytica* (Fig. 73-2) e de cistos nas fezes e de trofozoítas nos tecidos é diagnóstica de infecção por amebas. Deve-se ter cuidado ao fazer a distinção entre este tipo de amebas e as comensais, bem como entre essas amebas e leucócitos polimorfonucleares. O exame microscópico de amostras de fezes é essencialmente insensível, uma vez que os trofozoítas não se distribuem homogeneamente na amostra e os parasitas podem se concentrar em úlceras intestinais e nas margens dos abscessos, mas não nas fezes nem no centro necrótico dos abscessos. Por essa razão, faz-se a coleta de várias amostras de fezes. A amebíase extraintestinal é diagnosticada algumas vezes por meio da utilização de procedimentos de varredura do fígado e de outros órgãos. Testes sorológicos específicos juntamente com exame microscópico de amostras provenientes de abscessos podem confirmar o diagnóstico. Quase todos os pacientes com amebíase hepática e a maioria dos pacientes com doença intestinal (> 80%) apresentam resultados sorológicos positivos no momento da apresentação clínica. Tal fato pode ter menor utilidade em áreas endêmicas onde a prevalência de resultados sorológicos positivos é maior. Exames de amostras de fezes frequentemente são negativos na doença extraintestinal. Além dos testes microscópicos e sorológicos convencionais, pesquisadores desenvolveram vários testes imunológicos para detecção de antígeno fecal, bem como ensaios de reação em cadeia da polimerase (PCR) e de sondas de DNA para detecção de cepas patogênicas de *E. histolytica (versus E. dispar* ou *E. moshkovskii* não patogênicas). Essas abordagens diagnósticas mais recentes são promissoras e estão comercialmente disponíveis.

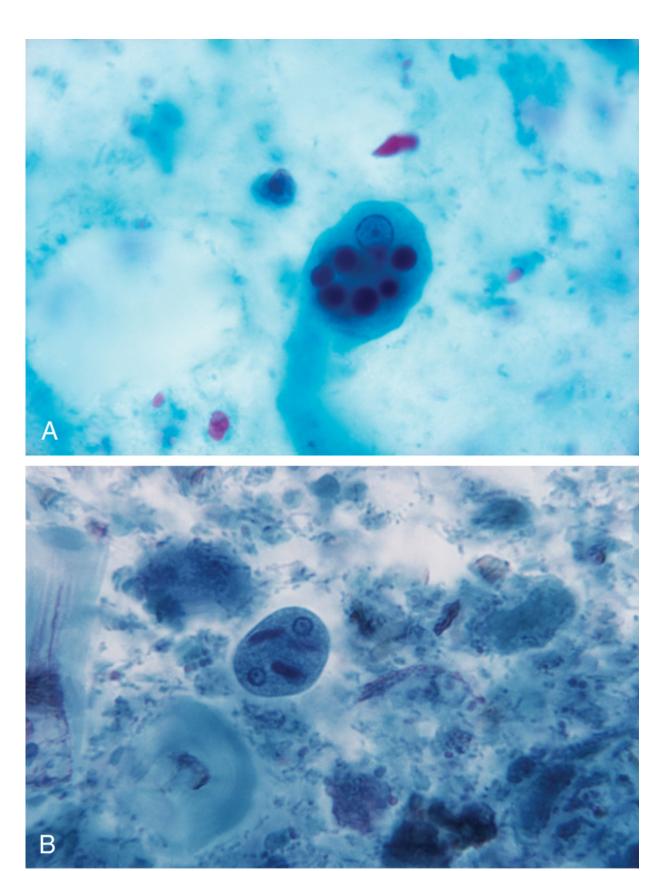


FIGURA 73-2 Trofozoíta (**A**) e cisto (**B**) de *Entamoeba histolytica*. Os trofozoítas são móveis e seu tamanho varia de 12 a 60 μm (média de 15 a 30 μm). O único núcleo existente na célula é redondo, possui um ponto no centro (cariossoma) e uma distribuição uniforme dos grânulos de cromatina ao redor da membrana nuclear. Eritrócitos fagocitados podem estar no citoplasma. Os cistos são menores (10 a 20 μm [tamanho médio, 15 a 20 μm]) e contêm de um a quatro núcleos (geralmente quatro). Corpos cromatoides arredondados podem ser encontrados no citoplasma. (De CDC Public Health Image Library.)

Tratamento, Prevenção e Controle

A amebíase aguda e fulminante é tratada com metronidazol seguido de iodoquinol, furoato de diloxanida ou paromomicina. O portador assintomático pode ser erradicado com iodoquinol, furoato de diloxanida ou paromomicina. Como a infecção humana resulta da ingestão de comida ou água contaminada com fezes humanas, ou como resultado de práticas sexuais específicas, a eliminação do ciclo de infecção requer a implantação de medidas adequadas de saneamento e

educação sobre as vias de transmissão. Ainda que a cloração e a filtração dos suprimentos de água possam limitar a disseminação dessas e de outras infecções por protozoários entéricos, não é possível realizá-las em vários países em desenvolvimento. Os médicos devem alertar aqueles que viajam para tais países sobre os riscos associados ao consumo de água (incluindo cubos de gelo), frutas com casca e vegetais crus. A água deve ser fervida; e as frutas e vegetais, completamente limpos antes de serem consumidos.

Outras Amebas Intestinais

Entre outras amebas que podem parasitar o trato gastrointestinal humano estão *Entamoeba coli, E. hartmanni, E. polecki, E. nana, I. bütschlii* e *Blastocystis* spp. *E. polecki,* um parasita primário de porcos e macacos, pode causar diarreia moderada e transitória nos humanos. O diagnóstico da infecção por *E. polecki* é confirmado pela detecção microscópica de cistos em amostras de fezes. O tratamento é o mesmo utilizado nos casos de infecção por *E. histolytica*.

Blastocystis, previamente considerada como uma levedura não patogênica, nos dias de hoje é o centro de grande controvérsia relacionada com a sua posição taxonômica e patogenicidade. Recentemente, Blastocystis foi colocado no reino Stramenopila (anteriormente Chromista), com base na análise de ácido ribonucleico ribossômico (RNAr) 18S e em outras evidências moleculares. Em termos clínicos, existem pelo menos nove subtipos (genótipos) dentro de Blastocystis. Estudos recentes têm mostrado que não existe nenhum grupo exclusivo para os seres humanos, e todos os clados têm sido detectados nas fezes de humanos. Consequentemente, os isolados humanos de Blastocystis que no passado foram referidos como Blastocystis hominis deviam ser chamados de espécies Blastocystis, porque não há um único subtipo específico para os seres humanos. O organismo é encontrado em amostras de fezes obtidas de indivíduos assintomáticos e de pessoas apresentando diarreia persistente. Sugeriu-se que a doença é indicada pela presença de grande número desses parasitas (cinco ou mais por campo microscópico observado com óleo de imersão) na ausência de outros patógenos intestinais. Outros investigadores concluíram que a "blastocistose sintomática" pode ser atribuída a um patógeno não detectado ou a problemas de função intestinal. O organismo pode ser detectado em montagens a fresco ou em esfregaços de amostras de fezes corados com tricromo. O tratamento com iodoquinol ou metronidazol tem apresentado sucesso na erradicação de organismos do intestino e em proporcionar alívio aos sintomas. Entretanto, o papel definitivo desse organismo na doença ainda não foi demonstrado.

As amebas intestinais não patogênicas são importantes, porque devem ser diferenciadas de *Entamoeba histolytica*, *E. polecki* e *Blastocystis* spp., principalmente no caso da *E. coli*, que é detectada com frequência em amostras de fezes coletadas de pacientes expostos à comida ou água contaminada. A identificação correta das amebas intestinais requer o exame microscópico cuidadoso do cisto e dos trofozoítas presentes em amostras de fezes coradas e não coradas (Tabela 73-1). Do mesmo modo, atualmente é possível fazer a diferenciação de *E. dispar* e de *E. moshkovskii* da *E. histolytica* por meio do uso de reagentes imunológicos específicos.

Flagelados

Os flagelados de significado clínico incluem *Giardia duodenalis* (*lamblia/intestinalis*), *Dientamoeba fragilis* e *Trichomonas vaginalis*. Flagelados comensais não patogênicos, como *Chilomastix mesnili* (entérico) e *Trichomonas tenax* (oral), também podem ser observados. Organismos de *Giardia*, assim como *E. histolytica*, apresentam os estágios de cisto e trofozoítas em seus ciclos biológicos. Já em *Trichomonas* spp. não são observados cistos. Em contraste, não foi observada fase de cisto por *D. fragilis* em humanos, mas o foi em camundongos. Diferentemente das amebas, os flagelados se movem por movimentação rápida do flagelo que impulsiona os organismos em ambientes fluidos. Doenças causadas por flagelados são primeiramente o resultado de irritação mecânica e inflamação. Por exemplo, *G. duodenalis* (*lamblia/intestinalis*) fixa-se às vilosidades intestinais com um disco adesivo, resultando em dano tecidual localizado. A invasão do tecido com extensiva destruição, como se observa na infecção por *E. histolytica*, raramente é observada nas infecções por flagelados.

Giardia duodenalis (G. lamblia; G. intestinalis)

A literatura se refere a estes organismos como *G. duodenalis*, *G. lamblia*, e *G. intestinalis*, refletindo a ambiguidade existente em torno da classificação e da nomenclatura desses flagelados. São necessários mais estudos para determinar designações ou agrupamentos das espécies; no entanto, *G. duodenalis* é, atualmente, a designação de espécie aceita e será utilizada neste capítulo.

Fisiologia e Estrutura

Tanto o cisto quanto os trofozoítas de G. duodenalis são detectados em amostras fecais de pacientes infectados (Fig. 73-3).

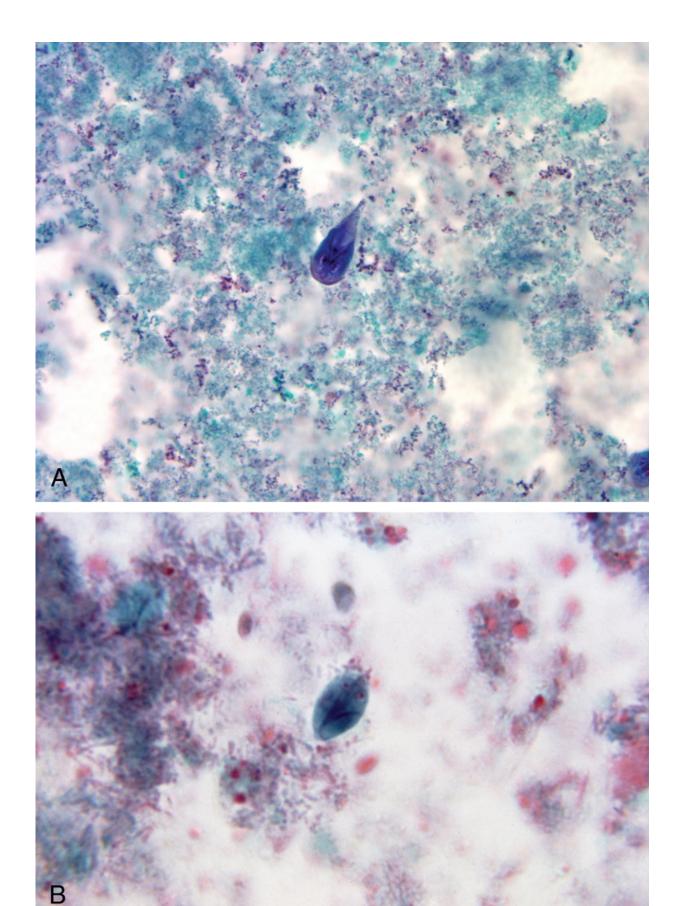


FIGURA 73-3 Trofozoíta (A) e cisto (B) de *Giardia duodenalis*. Os trofozoítas medem 9 a 12 μm de comprimento e 5 a 15 μm de largura. Flagelos estão presentes, bem como dois núcleos com grandes cariossomas centrais, um grande disco ventral de sucção para fixação do parasita às vilosidades intestinais e dois corpos parabasais oblongos abaixo dos núcleos. A morfologia dá a impressão de que os trofozoítas estão olhando na direção do observador. Os cistos são menores — 8 a 12 μm de comprimento por 7 a 10 μm de largura. Núcleos e corpos parabasais estão presentes.(De CDC Public Health Image Library.)

A infecção por *G. duodenalis* se inicia pela ingestão dos cistos (Fig. 73-4). Estima-se que a dose infectante mínima para o homem seja de 10 a 25 cistos. O ácido gástrico estimula o rompimento dos cistos com liberação dos trofozoítas no duodeno e no jejuno, onde os organismos se multiplicam por fissão binária. Os trofozoítas podem se fixar nas vilosidades intestinais por meio de um proeminente disco ventral de sucção. Embora as pontas das vilosidades possam parecer achatadas e ser observada uma inflamação na mucosa com hiperplasia dos folículos linfoides, não ocorre necrose tecidual. Além disso, a disseminação metastática da doença além do trato gastrointestinal é muito rara.

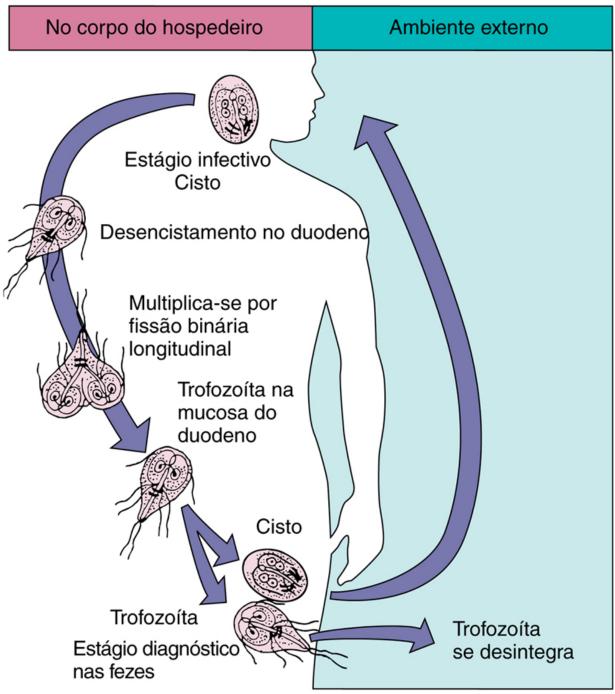


FIGURA 73-4 Ciclo de vida de Giardia duodenalis.

Epidemiologia

A distribuição de *Giardia* é mundial, e esses flagelados apresentam uma distribuição silvestre ou "selvagem" em muitos córregos, lagos e refúgios de montanha. Tal distribuição silvestre é mantida em animais-reservatório, tais como castores e ratos almiscarados. A giardíase é adquirida pelo consumo de água contaminada tratada inadequadamente, ingestão de vegetais e frutas crus contaminados, ou pela transmissão direta de uma pessoa a outra por via fecal-oral ou oral-anal. O estágio de cisto é resistente às concentrações de cloro (uma a duas partes por milhão) empregadas na maioria dos estabelecimentos de tratamento de água. Por isso, o tratamento correto da água deve incluir reagentes químicos mais filtração.

Os fatores de risco associados à infecção por *Giardia* incluem condições sanitárias precárias, viagem a áreas sabidamente endêmicas, consumo de água tratada de forma inadequada (p.ex., de córregos de montanha contaminados), creches e

prática de sexo oral-anal. Podem ocorrer infecções sob a forma de surtos e endêmicas em creches e outros cenários institucionais e entre os membros das famílias de crianças infectadas. Para o controle da infecção nessas situações é importante dar atenção especial à lavagem das mãos e ao tratamento de todos os indivíduos infectados.

Síndromes Clínicas

A infecção por *Giardia* pode resultar em transporte assintomático (observado em ≈ 50% dos indivíduos infectados) ou em doença sintomática que compreende desde uma diarreia moderada até a síndrome da má absorção (Caso Clínico 73-2). O período de incubação antes do desenvolvimento da doença sintomática varia de 1 a 4 semanas (em média 10 dias). O aparecimento da doença é repentino, com uma diarreia aquosa e de odor desagradável, cólicas abdominais, flatulência e esteatorreia. Sangue e pus raras vezes estão presentes em amostras de fezes, o que é compatível com a ausência de destruição tecidual. Geralmente, há uma recuperação espontânea após 10 a 14 dias, embora uma doença mais crônica com recaídas múltiplas possa ocorrer. Isso é um problema em especial para pacientes com deficiência de imunoglobulina A ou divertículos intestinais.



Caso Clínico 73-2 Giardíase Resistente a Fármacos

Abboud et al. (Clin Infec Dis 32:1792-1794, 2001) descreveram um caso de giardíase resistente ao metronidazol e ao albendazol, cujo tratamento foi bem-sucedido com nitazoxanida. O paciente era um homem homossexual com 32 anos, aidético, admitido no hospital devido a uma diarreia incurável. O exame das fezes revelou a presença de inúmeros cistos de Giardia duodenalis (G. lamblia). O paciente foi tratado cinco vezes sem sucesso com metronidazol e albendazol, sem melhoras no quadro de diarreia nem na eliminação dos cistos. Apesar de uma terapia antirretroviral combinada também ter sido administrada, esta foi ineficaz, e a análise genotípica viral detectou mutações associadas a uma elevada resistência à maioria dos fármacos antirretrovirais. O paciente foi subsequentemente tratado para giardíase com nitazoxanida, resultando na resolução da diarreia e em resultados negativos nos exames parasitológicos de fezes. A resistência do isolado infectante de G. duodenalis ao metronidazol e ao albendazol foi confirmada por estudos realizados in vivo e in vitro. A nitazoxanida pode ser considerada uma alternativa útil na terapia para casos de giardíase resistente.

Diagnóstico Laboratorial

Com o aparecimento de diarreia e desconforto abdominal, amostras de fezes devem ser examinadas quanto à presença de cistos e trofozoítas (Fig. 73-3). A excreção de *Giardia* spp. pode ocorrer sob a forma de "jatos", com presença de muitos organismos nas fezes num dia e poucos organismos ou nenhum presentes no dia seguinte. Por essa razão, o médico jamais deve aceitar os resultados do exame de uma única amostra negativa de fezes como evidência de que o paciente está livre de parasitas intestinais. O correto é examinar uma amostra de fezes por dia durante 3 dias. Se as fezes continuarem negativas em um paciente com elevada suspeita de giardíase, amostras adicionais podem ser coletadas por aspiração duodenal, Entero-Test® ou teste do barbante, ou por meio de biópsia do intestino delgado superior. Além da microscopia convencional, vários testes imunológicos para detecção do **antígeno fecal** estão disponíveis comercialmente. Tais testes incluem imunoeletroforese contracorrente, imunoensaio enzimático, um ensaio imunocromatográfico e imunofluorescência indireta. As sensibilidades descritas variam de 88% a 98%, enquanto as especificidades vão de 87% a 100%. Numerosas publicações têm documentado a sensibilidade superior dos métodos de imunoensaio em relação ao exame parasitológico de fezes de rotina para a detecção de *Giardia*. Um ensaio de PCR multiplex, disponível comercialmente para a detecção de *Giardia* e outros parasitas protozoários entéricos foi liberado há pouco tempo pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos para uso clínico.

Tratamento, Prevenção e Controle

É importante erradicar *Giardia* spp. de portadores assintomáticos e de pacientes doentes. O fármaco de escolha é o metronidazol ou nitazoxanida, sendo furazolidona, tinidazol, paromomicina, albendazol ou quinacrina alternativas aceitáveis. A prevenção e o controle da giardíase envolvem evitar água e alimentos contaminados, sobretudo por parte de viajantes e pessoas que vivem fora de casa. Filtrar a água proveniente de córregos e lagos em países com uma elevada incidência da doença garante proteção. Também é necessária a manutenção do funcionamento adequado de sistemas de filtração em fornecedores de água municipais, uma vez que os cistos são resistentes aos procedimentos padronizados de cloração. Esforços de saúde pública devem ser realizados no sentido de identificar o reservatório da infecção para prevenir a disseminação da doença. Além disso, o comportamento sexual de alto risco também deve ser evitado.

Dientamoeba fragilis

Fisiologia e Estrutura

D. fragilis foi classificada inicialmente como uma ameba; entretanto, as estruturas internas do trofozoíta são típicas de um flagelado. O estágio de cisto não foi descrito em humanos.

Epidemiologia

D. fragilis apresenta uma distribuição mundial. A transmissão do delicado trofozoíta não é completamente compreendida. Alguns pesquisadores acreditam que o organismo pode ser transportado de pessoa a pessoa dentro da casca protetora dos ovos de vermes, tal como ocorre com *Enterobius vermicularis*, o oxiúro. Há transmissão pelas vias fecal-oral e oral-anal.

Síndromes Clínicas

A maioria das infecções por *D. fragilis* é assintomática, com colonização do ceco e do cólon superior. Contudo, alguns pacientes podem desenvolver doença sintomática com desconforto abdominal, flatulência, diarreia intermitente, anorexia e perda de peso. Não há evidência de invasão tecidual por esse flagelado, apesar de ocorrer irritação da mucosa intestinal.

Diagnóstico Laboratorial

A infecção é confirmada por meio do exame microscópico de amostras de fezes nas quais trofozoítas típicos podem ser observados. O trofozoíta é pequeno (5 a 12 µm), com um ou dois núcleos. O cariossoma central consiste em quatro a seis grânulos discretos. A excreção do parasita pode variar diariamente de forma marcante, tornando necessária a coleta de várias amostras de fezes. O exame de uma amostra de fezes após a administração de laxante também pode ser útil.

Tratamento, Prevenção e Controle

Diversos agentes antimicrobianos têm sido usados para o tratamento de infecções por *D. fragilis*, com variado grau de sucesso. Estes incluem doxiciclina, iodoquinol, metronidazol e secnidazol. Entretanto, não há unanimidade sobre a melhor alternativa para o tratamento desse organismo. O reservatório para tal flagelado e o ciclo de vida do organismo são desconhecidos, dificultando fazer recomendações específicas para prevenção e controle. Porém, as infecções podem ser evitadas mantendo-se condições sanitárias adequadas. A erradicação das infecções por *Enterobius* também pode reduzir a transmissão da infecção por *Dientamoeba*.

Trichomonas vaginalis

Fisiologia e Estrutura

T. vaginalis não é um protozoário intestinal, e sim o causador de infecções urogenitais. Os quatro flagelos e uma curta membrana ondulante são responsáveis por sua motilidade. *T. vaginalis* existe apenas sob a forma de trofozoíta e é encontrado na uretra e na vagina das mulheres e na uretra e glândula prostática dos homens.

Epidemiologia

Este parasita apresenta uma distribuição mundial, sendo a relação sexual o principal meio de transmissão da infecção (Fig. 73-5). Ocasionalmente, as infecções são transmitidas por fômites (toalhas, vestuário), embora esse tipo de transmissão seja limitado pela labilidade da forma trofozoítica. Crianças podem ser infectadas pela mãe durante o nascimento, quando da passagem pelo canal de parto. A prevalência desse flagelado em países desenvolvidos é de 5% a 20% em mulheres e de 2% a 10% em homens.

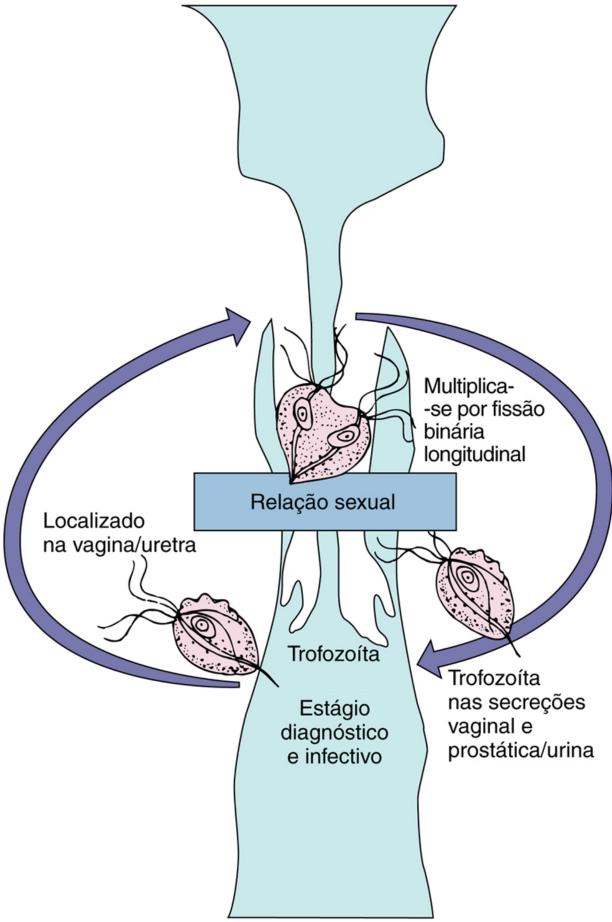


FIGURA 73-5 Ciclo de vida de *Trichomonas vaginalis*.

Síndromes Clínicas

A maioria das mulheres infectadas é assintomática ou tem um corrimento vaginal escasso e aquoso. Pode ocorrer vaginite com uma inflamação mais extensa e erosão do revestimento epitelial associada a prurido, ardência e micção dolorosa.

Homens primariamente são portadores assintomáticos que servem de reservatório para a infecção em mulheres. Contudo, ocasionalmente os homens podem apresentar uretrite, prostatite e outros problemas do trato urinário.

Diagnóstico Laboratorial

O exame microscópico do corrimento vaginal ou uretral para a pesquisa de trofozoítas característicos é o método diagnóstico de escolha (Fig. 73-6). Esfregaços corados (Giemsa, Papanicolaou) ou não corados podem ser examinados. O alcance diagnóstico pode ser melhorado por meio da cultura dos organismos (sensibilidade de 93%) ou pelo uso de coloração com emprego de anticorpos monoclonais fluorescentes (sensibilidade de 86%). Também está comercialmente disponível um teste que utiliza sonda de ácido nucleico. Testes sorológicos podem ser úteis em inquéritos epidemiológicos.

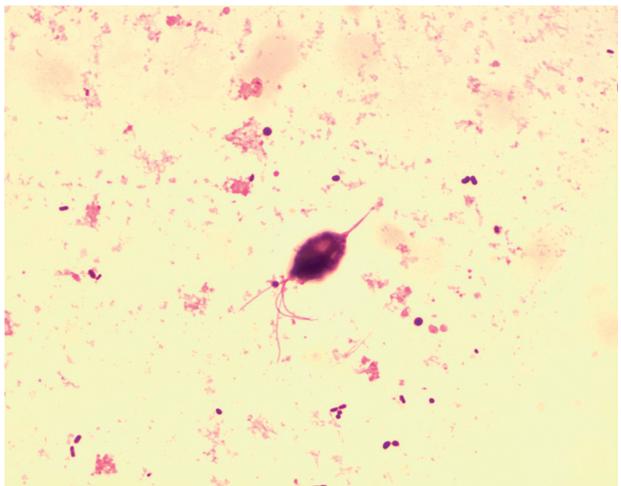


FIGURA 73-6 Trofozoíta de *Trichomonas vaginalis*. O trofozoíta mede de 7 a 23 μm de comprimento e de 6 a 8 μm de largura (em média 13 × 7 μm). Os flagelos e uma curta membrana ondulante estão presentes em um dos lados, e um axostilo se estende pela porção central do parasita.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o metronidazol. Ambos os parceiros sexuais (homens e mulheres) devem ser tratados para evitar reinfecção. A resistência ao metronidazol foi descrita e pode tornar necessária a repetição do tratamento usando doses mais altas. Mais recentemente, a FDA aprovou o uso de tinidazol para tratamento da tricomoníase em adultos e este pode ser usado como um agente de primeira linha ou em casos refratários ao metronidazol. A higiene pessoal, evitar o compartilhamento de artigos de banho e vestuário, bem como práticas sexuais seguras são medidas de prevenção importantes. A eliminação do transporte do parasita nos homens é crítica para a erradicação da doença.

Ciliados

O protozoário intestinal *Balantidium coli* é o único membro do grupo de ciliados que é patogênico para humanos. A doença causada por *B. coli* é semelhante à amebíase, uma vez que os organismos produzem substâncias proteolíticas e citotóxicas que promovem invasão tecidual e ulceração intestinal.

Balantidium coli

Fisiologia e Estrutura

O ciclo biológico de *B. coli* é simples, envolvendo a ingestão de cistos infectantes, desencistamento e invasão dos trofozoítas no revestimento mucoso do intestino grosso, ceco e íleo terminal (Fig. 73-7). O trofozoíta é coberto de camadas de cílios semelhantes a fios de cabelo que auxiliam na movimentação. Morfologicamente mais complexo que as amebas, *B. coli* possui uma espécie de boca afunilada primitiva chamada de **citóstoma**, um macronúcleo e um micronúcleo envolvidos no processo reprodutivo, vacúolos digestivos e dois vacúolos contráteis.

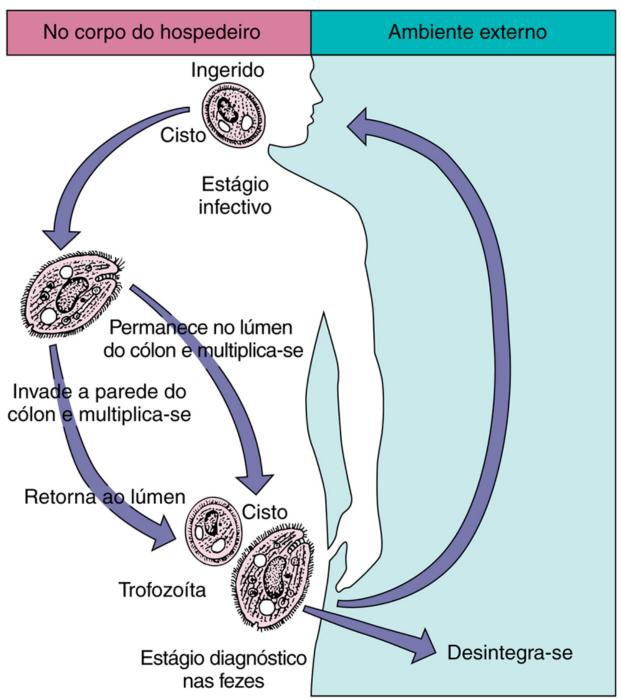


FIGURA 73-7 Ciclo de vida de Balantidium coli.

Epidemiologia

A distribuição de *B. coli* é mundial. Suínos e (menos comumente) macacos são seus reservatórios mais importantes. As infecções são transmitidas por via fecal-oral; surtos estão associados à contaminação de abastecimento de água com fezes suínas. A transmissão de pessoa a pessoa, incluindo pessoas que manuseiam alimentos, foi implicada em surtos da doença. Entre os fatores de risco associados à doença humana estão o contato com suínos e condições de higiene abaixo do padrão.

Síndromes Clínicas

Como ocorre com outros parasitas protozoários, também pode haver o portador assintomático de *B. coli*. A doença sintomática se caracteriza por dor e sensibilidade abdominais, tenesmo, náuseas, anorexia e fezes aquosas contendo sangue e pus. Pode ser observada ulceração da mucosa intestinal, como na amebíase, e também pode ocorrer uma complicação

secundária causada por invasão bacteriana da mucosa intestinal erodida. A invasão extraintestinal de outros órgãos é extremamente rara na balantidíase.

Diagnóstico Laboratorial

O exame microscópico das fezes é realizado para detectar a presença de cistos e trofozoítas. O trofozoíta é muito grande, com comprimento variando de 50 a 200 µm e largura entre 40 e 70 µm. A superfície é coberta de cílios, e há uma estrutura interna proeminente, o **macronúcleo**. Um **micronúcleo** também está presente. Dois vacúolos pulsáteis e contráteis também são observados em preparações frescas de trofozoítas. O cisto é menor (40 a 60 µm de diâmetro), circundado por uma parede clara e refratária, e possui um único núcleo no citoplasma. *B. coli* é um organismo grande comparado a outros protozoários intestinais, sendo prontamente detectado em preparações microscópicas de material fresco.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a tetraciclina, tendo como agentes antimicrobianos alternativos o iodoquinol e o metronidazol. As ações para prevenção e controle são semelhantes àquelas adotadas na amebíase. A higiene pessoal apropriada, a manutenção das condições sanitárias e o monitoramento cuidadoso das fezes suínas constituem medidas preventivas importantes.

Esporozoa (coccídios)

Esporozoa constitui um grupo muito grande chamado **Apicomplexa** ou **Coccidia**, e alguns de seus membros são discutidos nesta seção junto com os parasitas intestinais e outros serão discutidos juntamente com parasitas do sangue e dos tecidos. Todos os esporozoários demonstram características típicas, especialmente a existência de reprodução assexuada (**esquizogonia**) e sexuada (**gametogonia**). A maioria dos membros do grupo também compartilha hospedeiros alternativos; por exemplo, na malária, mosquitos abrigam o ciclo sexuado; e humanos, o ciclo assexuado. Os esporozoários intestinais discutidos neste capítulo são *Cystoisospora* (anteriormente *Isospora*), *Sarcocystis, Criptosporidium* e *Cyclospora* spp.

Cystoisospora (anteriormente Isospora) belli

Fisiologia e Estrutura

Cystoisospora belli é um parasita coccídio do epitélio intestinal. Pode haver tanto reprodução sexuada como assexuada no epitélio intestinal, resultando em lesão tecidual (Fig. 73-8). O produto final da gametogênese é o oocisto, que é o estágio diagnóstico que está presente nas amostras fecais.

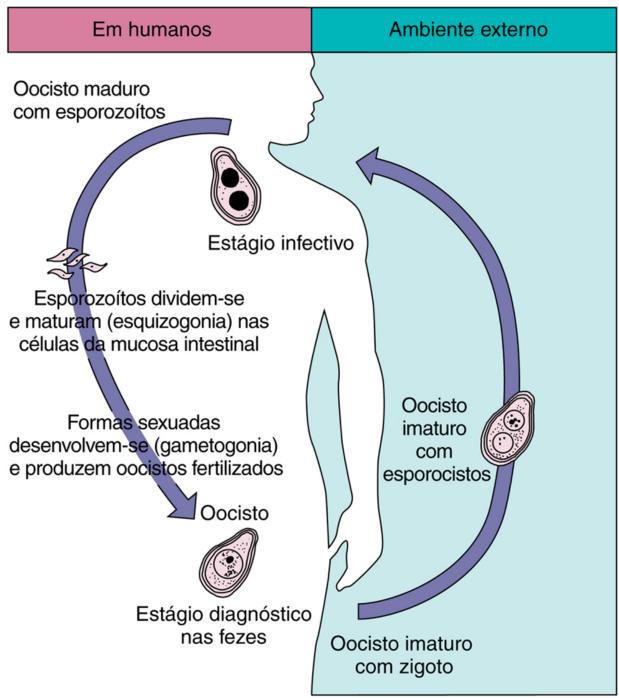


FIGURA 73-8 Ciclo de vida de espécies de Cystoisospora (anteriormente Isospora).

Epidemiologia

Organismos de *Cystoisospora* apresentam uma distribuição mundial, porém não são detectados com frequência em amostras de fezes. Esse parasita tem sido relatado com frequência cada vez maior em pessoas saudáveis e em pacientes imunocomprometidos. Tal fato provavelmente é em virtude da maior atenção à doença causada por *Cystoisospora* spp. em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). A infecção por esse organismo segue-se à ingestão de alimentos e água contaminados ou pelo contato sexual oral-anal.

Síndromes Clínicas

Indivíduos infectados podem ser portadores assintomáticos ou apresentar uma doença gastrointestinal moderada ou grave. A doença geralmente mimetiza a giardíase, com uma síndrome de má absorção caracterizada por fezes moles e de odor desagradável. Pode haver diarreia crônica com perda de peso, anorexia, mal--estar e fadiga, embora seja difícil separar tal apresentação da doença subjacente do paciente.

Diagnóstico Laboratorial

O exame cuidadoso do sedimento concentrado de fezes e a coloração com solução de iodo ou pelos métodos derivados da coloração pela fucsina-fenicada revelam o parasita (Fig. 73-9). A biópsia do intestino delgado tem sido utilizada para estabelecer o diagnóstico quando os resultados dos testes realizados com amostras de fezes são negativos.

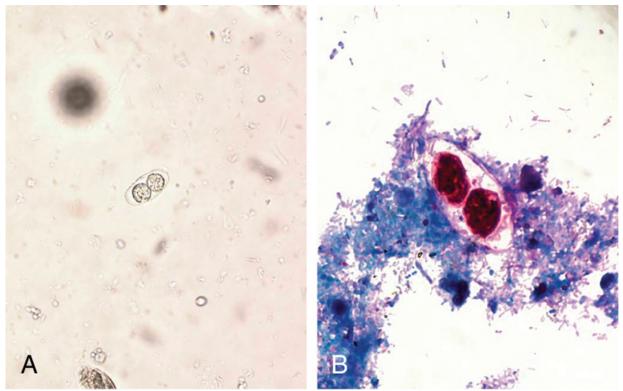


FIGURA 73-9 Oocisto de *Cystoisospora belli* contendo dois esporoblastos. **A,** Exame direto a fresco. **B,** Coloração pela fucsina-fenicada. Os oocistos são ovoides (≈ 25 μm de comprimento × 15 μm de largura) com extremidades cônicas.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é trimetoprim-sulfametoxazol, com a combinação de pirimetamina e sulfadiazina como alternativa aceitável. A prevenção e o controle são realizados por meio da manutenção da higiene pessoal e boas condições sanitárias, e evitando-se o contato sexual oral-anal.

Espécies de Sarcocystis

O conhecimento do gênero *Sarcocystis* pelo médico é importante apenas para saber que os parasitas podem ser detectados em amostras de fezes. *Sarcocystis* spp. podem ser isoladas de suínos e do gado, sendo idênticas em todos os aspectos às *Cystoisospora* spp., com uma exceção: os oocistos de *Sarcocystis* se rompem antes de passarem para as fezes, nas quais somente os esporocistos estão presentes. A doença intestinal pode ocorrer após a ingestão de carne infectada e é caracterizada por náuseas, dor abdominal e diarreia. Alguns indivíduos podem estar infectados sem apresentarem sinais clínicos. Infecções musculares causadas por *Sarcocystis* podem ocorrer no homem em caso de ingestão dos esporocistos, no entanto, quase sempre são moderadas ou subclínicas. Não existe tratamento conhecido para a sarcocistose humana, intestinal ou muscular.

Espécies de Cryptosporidium

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida da *Cryptosporidium* é típico dos coccídios, como é a doença intestinal, porém esse parasita difere quanto à localização intracelular dos organismos nas células epiteliais (Fig. 73-10). Em contraste à invasão intracelular profunda observada com as *Cystoisospora* spp., os organismos de *Cryptosporidium* são encontrados junto à borda em escova do epitélio intestinal. Os coccídios se fixam à superfície das células e se replicam por meio de uma série de processos (merogonia, gametogonia, esporogonia), levando à produção de novos oocistos infecciosos. Após a esporogonia, os oocistos maduros tanto podem se romper junto ao trato digestivo do hospedeiro, causando a infecção de outras células, como podem ser eliminados para o meio ambiente.

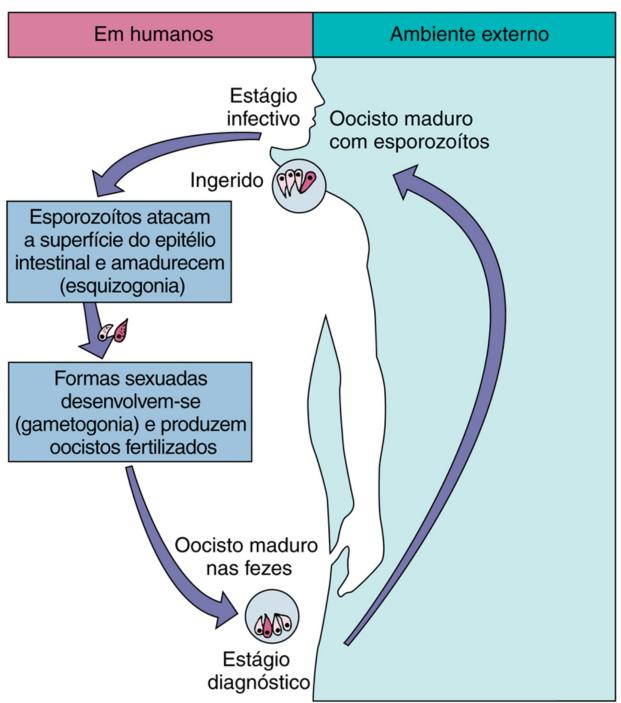


FIGURA 73-10 Ciclo de vida de espécies de Cryptosporidium.

Epidemiologia

Cryptosporidium spp. são distribuídas mundialmente. A infecção foi descrita em uma grande variedade de animais, incluindo mamíferos, répteis e peixes. Existem pelo menos 16 espécies diferentes de Cryptosporidium; todavia, C. hominis e C. parvum são as espécies que infectam o ser humano mais comumente. C. felis e C. ubiquitum foram reconhecidos recentemente como patógenos emergentes. Atualmente, a transmissão da criptosporidiose pela água está bem documentada como sendo uma via de infecção importante. O impressionante surto de criptosporidiose em Milwaukee em 1993 (≈ 300.000 indivíduos infectados) foi associado à contaminação do abastecimento de água municipal. Os criptosporídios são resistentes aos procedimentos usuais de purificação da água (cloração e ozônio), e acredita-se que o escoamento do lixo local e da água superficial para os reservatórios municipais seja uma fonte de contaminação importante. A disseminação zoonótica a partir de reservatórios animais para o homem, como a transmissão de pessoa a pessoa pelas vias fecal-oral e oral-anal, são meios comuns de infecção. Profissionais veterinários, tratadores de animais e homossexuais estão particularmente expostos ao risco de infecção. Muitos surtos da infecção são descritos em piscinas públicas e creches, onde a transmissão fecal-oral é comum.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 73-3)

Assim como em outras infecções por protozoários, a exposição a organismos de *Cryptosporidium* pode resultar em transporte assintomático. A doença em indivíduos previamente sadios na maioria das vezes é uma **enterocolite** moderada e

autolimitante, caracterizada por diarreia aquosa e sem sangue. A remissão espontânea depois de 10 dias é característica. Em contraste, a doença em pacientes com comprometimento imunológico (p.ex., pacientes com AIDS), caracterizada por 50 ou mais evacuações por dia e uma enorme perda de líquidos, pode ser grave e persistir por meses a anos. Infecções disseminadas por *Cryptosporidium* foram descritas em alguns pacientes com AIDS.



Caso Clínico 73-3 Criptosporidiose

Quiroz et al. (*J Infect Dis* 181:685-700, 2000) descreveram um surto repentino de criptosporidiose ligado a um manipulador de alimentos. No outono de 1998, foi noticiado ao Ministério da Saúde um surto de gastroenterite entre estudantes universitários. Dados preliminares sugeriram que a doença estava associada ao hábito de se alimentar em uma das cafeterias do *campus*; quatro empregados dessa cafeteria apresentavam doença semelhante. A suspeita inicial da causa do surto foi um agente viral, até que foi detectada a presença de *Cryptosporidium parvum* em amostras de fezes de vários empregados da cafeteria. Em um estudo de caso-controle com 88 casos de pacientes e 67 indivíduos-controle, a alimentação em uma das duas cafeterias mostrou estar associada à doença diarreica. *C. parvum* foi detectado em amostras de fezes de 16 (70%) dos 23 estudantes doentes e em dois dos quatro empregados. Um manipulador de alimentos, que estava doente com cripstosporidiose confirmada por exames laboratoriais, preparou uma refeição crua por volta dos dias em que se deu o surgimento da doença. Todos os 25 isolados de *C. parvum* submetidos à análise de DNA, incluindo três provenientes do manipulador de alimentos doente, apresentaram genótipo 1. Este surto ilustra o potencial da criptosporidiose de causar infecções alimentares. Evidências epidemiológicas e moleculares indicam que o manipulador de alimentos doente foi a provável fonte do surto da infecção.

Diagnóstico Laboratorial

Cryptosporidium pode ser detectado em grande número em amostras de fezes concentradas provenientes de indivíduos imunocomprometidos apresentando diarreia. Os oocistos geralmente medem de 5 a 7 mícrons e podem ser concentrados mediante a técnica modificada de centrífugo-flutuação em sulfato de zinco, ou pelo método de centrífugo-flutuação em sacarose de Sheather. As amostras devem ser coradas usando-se o método da **fucsina-fenicada** modificado (Fig. 73-11), ou por meio do ensaio de imunofluorescência indireta. O ensaio imunoenzimático e o ensaio de imunocromatografia para detecção de antígenos fecais estão comercialmente disponíveis, assim como um painel de PCR aprovado recentemente. Deve-se estar ciente de que o *Cryptosporidium* não será detectado pelo exame parasitológico de fezes de rotina (é preciso especificar coloração acidorresistente), e os dados atuais sugerem que os imunoensaios e a PCR são superiores aos métodos de microscopia para detecção desse organismo em amostras fecais. Como o número de oocistos eliminados nas fezes pode variar, devem ser examinadas pelo menos três amostras. Procedimentos sorológicos são utilizados em estudos epidemiológicos e de prevalência sorológica, mas ainda não estão amplamente disponíveis para o diagnóstico e o monitoramento das infecções.

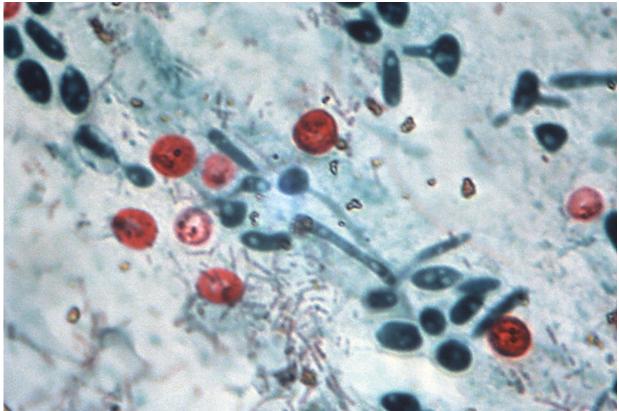


FIGURA 73-11 Oocistos de *Cryptosporidium* corados pela coloração da fucsina-fenicada (≈ 5 a 7 μm de diâmetro). (De CDC Public Health Image Library.)

Tratamento, Prevenção e Controle

Infelizmente, nenhuma terapia amplamente efetiva foi desenvolvida para o controle das infecções por *Cryptosporidium* em pacientes imunocomprometidos. A informação terapêutica baseia-se muito em casos isolados e informais. A espiramicina pode ajudar no controle da diarreia em alguns pacientes em estágios iniciais da AIDS que apresentam criptosporidiose, mas é ineficaz para pacientes aidéticos que já progrediram para estágios mais avançados da doença. A espiramicina não foi mais eficiente que um placebo no tratamento de diarreia criptosporídica em crianças. A nitazoxanida foi aprovada pela FDA para o tratamento da criptosporidiose em indivíduos com mais de 12 meses, porém ainda não foi aprovada para o tratamento da infecção em indivíduos imunocomprometidos. Os fármacos azitromicina e paromomicina têm sido usados para tratar criptosporidiose em pacientes infectados por HIV e têm mostrado reduzir a carga parasitária. Há também evidências que sugerem que alguns compostos antirretrovirais podem ter um efeito inibitório direto sobre *Cryptosporidium*. A terapia consiste primariamente na adoção de medidas de suporte para restaurar a enorme perda de líquidos que ocorre por meio da diarreia aquosa.

Por causa da ampla distribuição desse organismo em humanos e em outros animais, a prevenção da infecção é difícil. Os mesmos métodos de melhor higiene pessoal e saneamento utilizados para outros protozoários parasitas intestinais devem ser mantidos para essa doença. Suprimentos de água contaminados devem ser tratados por cloração e filtração. Além disso, evitar atividades sexuais de alto risco é fundamental.

Espécies de Cyclospora

Fisiologia e Estrutura

Cyclospora é um parasita coccídio taxonomicamente relacionado com espécies de Cystoisospora, Cryptosporidium parvum e Toxoplasma gondii. C. cayetanensis é a única espécie a infectar o ser humano identificada até agora.

Os organismos de *Cyclospora* se parecem com os de *Cystoisospora*, pelo fato de que seus oocistos são excretados sem esporulação e requerem a permanência no meio ambiente fora do hospedeiro por algum tempo para sofrer maturação. Após a ingestão, o oocisto esporulado é submetido ao processo de desencistamento no lúmen do intestino delgado, liberando esporozoítos. Estes infectam as células para formar merozoítos tipo I, os quais formarão merozoítos tipo II. Os merozoítos tipo II diferenciam-se no interior das células da mucosa em fases sexuais, os microgametócitos e macrogametócitos. O macrogametócito é fertilizado pelo microgametócito e produz um zigoto. Os oocistos são então formados e excretados no meio ambiente como oocistos não esporulados. Os mecanismos patogênicos por meio dos quais as espécies de *Cyclospora* causam doença clínica são desconhecidos. Contudo, geralmente o organismo infecta o intestino delgado superior e causa alterações histológicas pronunciadas. O organismo é encontrado junto a vacúolos citoplasmáticos nas células epiteliais do jejuno, e sua presença é associada a alterações inflamatórias, atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas.

As características morfológicas das espécies de *Cyclospora* são semelhantes àquelas das espécies de *Cystoisospora* e *C. parvum*, com poucas exceções. Os oocistos de *Cyclospora* são esféricos e medem 8 a 10 μm de diâmetro, em oposição aos oocistos menores de *C. parvum* (5 a 7 μm) e aos oocistos elípticos maiores das espécies de *Cystoisospora* (15 a 25 μm). Os oocistos das espécies de *Cyclospora* contêm dois esporocistos, cada um dos quais contém dois esporozoítos, que por sua vez possuem um núcleo ligado à membrana e micronemas característicos dos esporozoários. Em contraste, o oocisto de *Cryptosporidium* contém quatro esporozoítos livres ou não encistados, enquanto o oocisto de *Cystoisospora* contém dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos.

Epidemiologia

Assim como *Cryptosporidium, Cyclospora* apresenta uma ampla distribuição mundial e infecta uma variedade de répteis, pássaros e mamíferos. Apesar de a transmissão direta animal-homem ou pessoa-pessoa não ter sido documentada, atualmente existem evidências de que a infecção por *Cyclospora* seja adquirida por meio da água contaminada. Em áreas endêmicas (p.ex., Nepal), estudos documentaram uma ocorrência anual de ciclosporíase que coincide com a estação chuvosa. A prevalência da infecção (sintomática e assintomática) varia de 2% a 18% em áreas endêmicas e é estimada em 0,1% a 0,5% em países desenvolvidos. Surtos que ocorrem nos Estados Unidos durante os meses de verão foram correlacionados com o consumo de frutas e vegetais contaminados, sendo também sugerida a transmissão via água contaminada. De modo semelhante ao *Cryptosporidium*, as espécies de *Cyclospora* são resistentes à cloração, e não são detectadas prontamente por meio dos métodos geralmente utilizados para garantir a segurança do abastecimento de água potável.

Síndromes Clínicas

As manifestações clínicas da ciclosporíase se assemelham às da criptosporidiose: náuseas moderadas, anorexia, cólicas abdominais e diarreia aquosa. Fadiga, mal-estar, flatulência e inchaço da barriga também foram relatados. Em hospedeiros imunocompetentes a diarreia é autolimitada, mas pode se prolongar e durar semanas. Entre as pessoas imunocomprometidas, especificamente pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV), a doença clínica é tipicamente prolongada e grave, e está associada a uma elevada taxa de recorrência. Foram relatados dois casos de infecção do trato biliar por *Cyclospora* em pacientes com AIDS.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da ciclosporíase é baseado na detecção microscópica de oocistos nas fezes. Os oocistos devem ser detectados pelo exame microscópico de material fecal não corado (exame direto a fresco), no qual aparecem como corpos não refrativos, esféricos ou ovais e levemente enrugados, medindo de 8 a 10 µm de diâmetro; essas estruturas também possuem um agregado interno de glóbulos ligados à membrana (Fig. 73-12). Em amostras frescas, os organismos de *Cyclospora* aparecem fluorescentes quando examinados sob a luz ultravioleta de um microscópio de fluorescência, com o filtro de excitação ajustado para 365 nm.



FIGURA 73-12 Oocisto esporulado de *Cyclospora cayetanensis*. Os oocistos medem de 8 a 10 μm de diâmetro e contêm dois esporocistos com dois esporozoítos. (Exame direto a fresco em salina; ampliado 900 vezes). (De Peters W, Pasvol G: *Color atlas of tropical medicine and parasitology*, ed 6, London, 2007, Mosby.)

Os oocistos de *Cyclospora* podem ser concentrados por meio das técnicas de centrífugo-flutuação em sulfato de zinco, ou de centrífugo-flutuação em sacarose de Sheather. Os organismos são álcool-acidorresistentes e, por isso, podem ser detectados utilizando-se uma das várias técnicas derivadas da coloração pela fucsina-fenicada existentes, inclusive a coloração de Ziehl-Neelsen modificada ou a coloração de Kinyoun (Fig. 73-13). Um aspecto diferencial dos oocistos de *Cyclospora* é a variabilidade de coloração diante dos métodos derivados da fucsina-fenicada, variando de descoloridos a rosados, até vermelho-escuros.

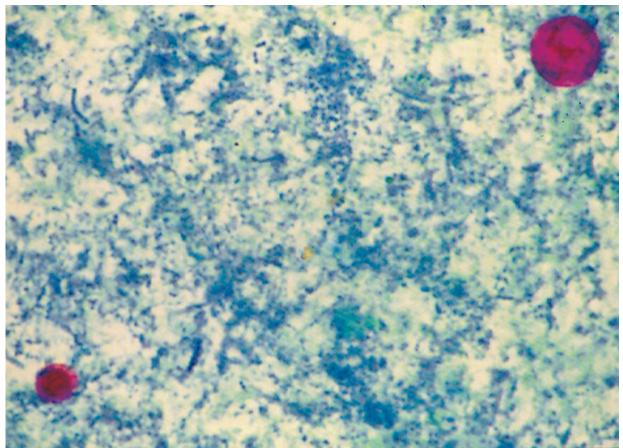


FIGURA 73-13 Oocistos de *Crypstosporidium parvum* (abaixo à esquerda) e de *Cyclospora cayetanensis* (acima à direita). Ambos parasitas são corados de vermelho na coloração de Ziehl-Nielsen modificada, porém os organismos de *Cyclospora* tipicamente tomam quantidades variáveis de corante e seus oocistos são maiores (8 a 10 μm comparados a 5 a 7 μm). (De Peters W, Pasvol G: *Color atlas of tropical medicine and parasitology*, ed 6, London, 2007, Mosby.)

A sensibilidade, a especificidade e o valor preditivo relativos aos vários métodos para o diagnóstico da infecção por *Cyclospora* são desconhecidos. Atualmente, não existem técnicas imunodiagnósticas que auxiliem no diagnóstico e monitoramento dessas infecções. A natureza rudimentar das técnicas de diagnóstico disponíveis e o conhecimento incompleto dos mecanismos da doença podem contribuir para o sub-reconhecimento da infecção por *Cyclospora*. Notavelmente, um teste PCR multiplex para a detecção de *Cyclospora* nas fezes já está comercialmente disponível.

Tratamento, Prevenção e Controle

A eficácia de trimetoprim-sulfametoxazol foi demonstrada por meio de relatos empíricos, em um amplo estudo aberto com pacientes aidéticos e em um ensaio controlado por placebo. Em pacientes infectados por HIV, parece que a elevada taxa de recaída pode ser atenuada com uma terapia supressiva por longo período usando trimetoprim-sulfametoxazol. Apesar de muitos agentes adicionais — incluindo metronidazol, nitazoxanida, ciprofloxacino, norfloxacino, quinacrina, ácido nalidíxico, tinidazol e furoato de diloxanida — serem utilizados em vários ensaios, nenhum teve sua eficiência comprovada.

Do mesmo modo que *Cryptosporidium* spp., a prevenção da infecção por *Cyclospora* é difícil. Embora os organismos de *Cyclospora* pareçam resistentes à cloração, o tratamento de estações de abastecimento de água com cloração e filtração continua sendo uma prática razoável. Além disso, os mesmos métodos de aperfeiçoamento da higiene pessoal e de saneamento utilizados para outros protozoários intestinais devem ser usados como medidas preventivas para essa doença.

Referências Bibliográficas

Abubakar I, Aliyu SH, Arumugam C, et al. Treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised individuals: systematic review and meta-analysis. *Br J Pharmacol*. 2007;63:387–393.

Buss SN, Leber A, Chapin K, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray Gastrointestinal Panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol*. 2015;53:915–925.

Connor DH, Schwartz DA. Pathology of infectious diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange; 1997.

Espinosa-Cantellano M, Martinez-Palomo A. Pathogenesis of intestinal amebiasis: from molecules to disease. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:318–331.

Fayer R. Sarcocystis spp. in humans. Clin Microbiol Rev. 2004;17:894–902.

Feng Y, Xiao L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24:110–140. Gardner TB, Hill DR. Treatment of giardiasis. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:114–128.

Leber AL, Novak-Weekly SM. Intestinal and urogenital amebae, flagellates, and ciliates. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Lindsay DS, Upton SJ, Weiss LM. Isospora, Cyclospora, and Sarcocystis. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

McHardy IH, Wu M, Shmizu-Cohen R, et al. Detection of intestinal protozoa in the clinical laboratory. J Clin Microbiol. 2014;52:712–720.

Ortega YR, Sanchez R. Update on Cyclospora cayetanensis, a food-borne and waterborne parasite. Clin Microbiol Rev. 2010;23:218-234.

Peters W, Giles HM. Color atlas of tropical medicine and parasitology. ed 4 London: Mosby; 1995.

Schuster FL, Ramirez-Avila L. Current world status of Balantidium coli. Clin Microbiol Rev. 2008;21:626-638.

Stark D, Barratt JL, van Hal S, et al. Clinical significance of enteric protozoa in the immunosuppressed human population. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:634–650.

Tan KSW. New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. Clin Microbiol Rev. 2008;21:639-665.

Verweij JJ, Stensvold CR. Molecular testing for clinical diagnosis and epidemiological investigations of intestinal parasite infections. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:371–418.

CAPÍTULO 74

Protozoários do Sangue e dos Tecidos

Uma paciente de transplante cardíaco com 44 anos reclamava de dores de cabeça, náuseas e vômitos para seu médico cerca de 1 ano depois do transplante. Ela não apresentava lesões na pele. Um exame de tomografia computadorizada da cabeça mostrava lesões realçadas em forma de anel. Foi realizada uma biópsia dessas lesões. Todas as culturas (bacteriológicas, fúngicas, virais) foram negativas. Colorações especiais de tecidos revelaram a presença de múltiplas estruturas parecidas com cistos de tamanhos variados.

- 1. Qual foi o diagnóstico diferencial dos agentes infecciosos para essa paciente? Qual era o agente etiológico mais provável?
- 2. Que outros testes teriam sido realizados para confirmar o diagnóstico?
- 3. Quais aspectos da história médica poderiam sugerir o risco de uma infecção por tal agente?
- ${\it 4. Quais eram as opções terapêuticas e as chances de que a terapia seria bem-sucedida?}$

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Plasmodium

Palavras-gatilho

Malária, quotidiano, febre terçã, febre quartã, febre da água negra, malária cerebral, febre terçã benigna, febre terçã maligna, múltiplas formas de anéis, gametócitos, mosquito *Anopheles*, trópicos e subtrópicos, profilaxia

Biologia, Virulência e Doença

- Plasmódios: parasitas de eritrócitos, coccídios ou esporozoários
- Cinco espécies que infectam o ser humano partilham um ciclo de vida comum
- Vias de aquisição: mosquito, transfusão, partilha de agulhas, congênita
- *P. falciparum* causa calafrios diários (quotidianos) e febre com náuseas, vômitos, diarreia, progredindo para uma periodicidade terçã (36 a 48 horas) com doença fulminante (febre terçã maligna); sem fase hepática persistente
- *P. knowlesi* causa febre diária (quotidiana), calafrios, cefaleias, rigidez, dor abdominal, tosse (sintomas graves em 7% dos casos; dificuldade respiratória e falência hepatorrenal); sem fase hepática persistente
- *P. vivax* causa "malária benigna terçã" com paroxismos de febre e calafrios cada 48 horas; um espectro de síndromes graves que constituem uma ameaça à vida, semelhantes às observadas com *P. falciparum*; uma fase hepática pode causar recidivas e recrudescência
- P. ovale causa malária benigna terçã de forma semelhante ao P. vivax com recidivas e recrudescência
- *P. malariae* possui um período de incubação longo (18 a 40 dias) e causa doença moderada a grave com uma periodicidade de 72 horas (malária quartã ou malarial); sem fase hepática persistente

Epidemiologia

- A infecção com *Plasmodium* spp. representa de 1 a 5 bilhões de episódios febris e de 1 a 3 milhões de óbitos por ano, 85% dos quais são na África
- Vetor mosquito *Anopheles* distribuído amplamente em regiões tropicais, subtropicais e temperadas
- *P. falciparum*: ocorre quase de forma exclusiva em regiões tropicais e subtropicais
- *P. knowlesi*: infecta o macaco do Velho Mundo e, de forma crescente, o ser humano, na Malásia e em países vizinhos ao longo do sudeste da Ásia
- *P. vivax*: distribuição geográfica ampla (regiões tropicais, subtropicais e temperadas); 80% dos casos ocorrem na América do Sul e sudeste da Ásia
- P. ovale: distribuído sobretudo na África tropical; também encontrado na Ásia e América do Sul
- *P. malariae*: ocorre nas mesmas áreas tropicais e subtropicais que os outros parasitas da malária, mas é menos prevalente

Diagnóstico

- Método mais frequentemente usado: detecção de parasitas em esfregaços sanguíneos espessos e finos corados com corante de Giemsa ou de Wright
- Detecção de antígenos através de um teste de diagnóstico rápido (TDR); usado quer em campo, quer em laboratórios de diagnóstico, como adjuvante do exame microscópico de esfregaços

Tratamento, Prevenção e Controle

- O tratamento da malária baseia-se na história, tendo em consideração viagens para áreas endêmicas, uma revisão clínica rápida e diagnóstico diferencial, trabalho laboratorial preciso e rápido e uso correto dos fármacos antimaláricos.
- Cloroquina ou quinina parentérica são os fármacos de eleição para as estirpes suscetíveis de *Plasmodium*; resistência ampla à cloroquina observada com *P. falciparum* e *P. vivax*
- Quimioprofilaxia com cloroquina, doxiciclina, malarone ou mefloquina, juntamente com a adoção de medidas para evitar picadas de mosquito (mosquiteiro, repelentes de insetos, uso de vestuário) necessárias para a prevenção
- Eliminação dos locais de procriação de mosquitos

Babesia

Palavras-gatilho

Babesia, zoonose, carrapatos, formas tétradas, esplenectomia, intracelular, eritrócitos

Biologia, Virulência e Doença

- Parasitas esporozoários intracelulares, morfologicamente semelhantes aos plasmódios
- Zoonose que infecta uma variedade de animais
- Babesia microti: causa habitual de babesiose nos Estados Unidos; transmitida por carrapatos Ixodes
- Período de incubação de 1 a 4 semanas
- Sintomas: mal-estar geral, febre sem periodicidade, cefaleias, calafrios, sudorese, fadiga, fraqueza
- Pode ocorrer anemia hemolítica associada a insuficiência renal
- Esplenectomia ou asplênia funcional, imunossupressão, infecção por HIV e idade avançada aumentam a suscetibilidade às infecções e a outras doenças mais graves

Epidemiologia

- > 70 espécies diferentes de Babesia encontradas em África, Ásia, Europa e América do Norte
- Ixodes dammini: vetor do carrapato ao longo da costa nordeste dos Estados Unidos
- Hospedeiro que é um reservatório essencial: camundongos do campo, voles, outros roedores pequenos
- A doença pode ser grave em indivíduos infectados por HIV
- B. microti transmitido cada vez mais através de transfusões sanguíneas

Diagnóstico

- O exame de esfregaço sanguíneo é o método diagnóstico de eleição
- Os testes sorológicos e de PCR também são usados para diagnosticar a babesiose

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratamento de eleição para doença leve a moderada: combinação de atovaquona e azitromicina
- Tratamento para doença grave: clindamicina, quinino, exsanguineotransfusão
- Vestuário protetor e repelente de insetos podem minimizar a exposição aos carrapatos
- A remoção rápida de carrapatos pode ser protetora

Toxoplasma gondii

Palavras-gatilho

Fezes de gato, carne crua, linfadenite, lesão do SNC, encefalomielite, caixa higiênica do gato, infecção congênita, AIDS

Biologia, Virulência e Doença

- Parasita intracelular coccídio típico, encontrado em uma variedade ampla de animais, incluindo aves, e no ser humano
- Hospedeiro reservatório essencial: gato doméstico comum e outros felinos
- Maioria das infecções por T. gondii assintomática
- Os sintomas ocorrem quando o parasita passa do sangue para os tecidos; incluem febre, calafrios, cefaleias, mialgias, linfadenite, fadiga
- Doença crônica marcada por hepatite, encefalomielite e miocardite
- A coriorretinite pode causar cegueira
- A infecção congênita implica a ocorrência de sequelas graves
- A reativação de toxoplasmose cerebral é uma causa principal de encefalite em pacientes com AIDS

Epidemiologia

Infecção ubíqua no ser humano

- Infecção devido à ingestão de carne cozida de forma inadequada a partir de animais hospedeiros intermediários ou ingestão de oocistos infecciosos a partir de fezes de gato contaminadas
- Pode ocorrer infecção transplacentária durante a gravidez
- Taxa de infecção grave influenciada pelo estado imune do indivíduo
- A doença no hospedeiro imunocomprometido é considerada como ocorrendo devido à reativação de uma infecção prévia latente em vez de ocorrer por uma nova exposição aos organismos

Diagnóstico

- · Aumento do título de anticorpos documentado na recolha seriada de amostras de sangue
- Painel de testes perfil sorológico de *T. gondii* (TSP) usado para determinar infecção recente *versus* infecção adquirida no passado
- O diagnóstico de encefalite por Toxoplasma envolve habitualmente o imageamento do cérebro
- Pode ser necessário recorrer a técnicas microscópicas, sorológicas e moleculares para estabelecer o diagnóstico definitivo

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratamento de eleição: regime inicial de pirimetamina com sulfadiazina em altas doses, seguido de doses mais baixas de ambos os fármacos, de forma indefinida (pacientes com AIDS e outros pacientes imunocomprometidos)
- Clindamicina ou espiramicina podem ser usadas no primeiro trimestre da gravidez
- A profilaxia pode ser considerada em pacientes de alto risco
- Medidas preventivas adicionais: evitar o consumo e o manuseio de carne crua ou mal cozida, evitar a exposição a fezes de gato

Leishmania

Palavras-gatilho

Calazar, febre dum-dum, doença cutânea e mucocutânea, leishmaniose visceral, mosca da areia, leishmaniose dérmica pós-calazar

Biologia, Virulência e Doença

- *Leishmania*: parasitas intracelulares obrigatórios, transmitidos dos animais para o ser humano ou do ser humano para ser humano, através de picadas da mosca da areia fêmea infectada
- Muitas espécies diferentes podem infectar o ser humano, produzindo uma variedade de doenças (cutânea, cutânea difusa, mucocutânea, visceral)
- As síndromes clínicas dependem das espécies envolvidas; espécies mais comuns: cutânea (*L. tropica*), mucocutânea (*L. braziliensis*), visceral (*L. donovani*, *L. infantum*), leishmaniose dérmica pós-calazar (*L. donovani*)

Epidemiologia

- Reservatórios naturais: roedores, sariguês, tamanduás, preguiças, cães, gatos
- A infecção pode ser transmitida segundo o ciclo animal-vetor-humano ou humano-vetor-humano, por contato direto com a lesão infectada ou, de forma mecânica, pelas moscas
- A leishmaniose mucocutânea ocorre mais frequentemente na Bolívia, Brasil, Peru; a leishmaniose cutânea possui uma distribuição muito mais generalizada através do Médio Oriente e em áreas focais da América do Sul
- A leishmaniose visceral (calazar, febre dum-dum): ≈ 50.000 casos por ano, 90% localizada em Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal, Sudão

Diagnóstico

- Diagnóstico de leishmaniose visceral, cutânea ou mucocutânea estabelecido baseado em evidencias clínicas em áreas endêmicas
- O diagnóstico definitivo depende da detecção de amastigotas nas amostras clínicas ou promastigotas em cultura; técnicas moleculares têm sido usadas para o diagnóstico, prognóstico e identificação de espécies

Tratamento, Prevenção e Controle

- O fármaco de eleição para todas as formas de leishmaniose é o estibogluconato de sódio, composto antimônio pentavalente (Pentostam)
- Fluconazol e miltefosina eficazes na doença cutânea
- O estibogluconato permanece o fármaco de eleição para a leishmaniose mucocutânea
- A prevenção envolve o tratamento rápido de infecções no ser humano e o controle dos hospedeiros reservatórios, juntamente com o controle do vetor

Tripanossomas

Palavras-gatilho

Doença do sono, mosca tsé-tsé, insetos reduvídeos, chagoma, sinal de Romaña, megaesôfago, sinal de Winterbottom, doença de Chagas

Biologia, Virulência e Doença

- Tripanossoma, um hemoflagelado, causa duas formas distintas da doença: tripanossomíase africana e tripanossomíase americana
- Tripanossomíase africana (doença do sono): doença crônica com duração de vários anos, transmitida pelas moscas tsétsé, doença fatal sem tratamento
- Tripanossomíase americana (doença de Chagas): assintomática, forma aguda ou crônica, transmitida por insetos reduvídeos

Epidemiologia

- *T. b. gambiense* limitada à África Central e Oeste tropical, correlacionando-se com o alcance do vetor voador mosca tsétsé
- T. b. rhodesiense encontrada na África Oriental, sobretudo em países com criação de gado
- Animais domésticos e animais de caça selvagem atuam como reservatório para T. b. rhodesiense
- *T. cruzi* encontra-se amplamente distribuído, quer em insetos reduvídeos, quer em uma variedade extensa de reservatórios animais na América do Norte, Central e do Sul
- Devido à natureza crônica da infecção, o rastreio de doadores de órgãos sólidos e de sangue, no que diz respeito à doença de Chagas, tem-se tornado importante

Diagnóstico

- Os agentes da doença do sono podem ser demonstrados em esfregaços sanguíneos, aspirados de gânglios linfáticos e em líquido cefalorraquidiano concentrado
- T. cruzi pode ser demonstrado em esfregaços sanguíneos precocemente na fase aguda da infecção

Tratamento, Prevenção e Controle

- Suramina: fármaco de eleição para tratar as fases agudas, sanguínea e linfática, das formas Gambiana e Rodesiana da doença do sono; a pentamidina é um fármaco alternativo
- Melarsoprol: fármaco de eleição para a doença do sistema nervoso central
- Medidas de controle eficazes: abordagem integrada para reduzir o reservatório humano da infecção, uso de armadilhas de moscas e inseticidas
- Fármacos de eleição para tratamento da doença de Chagas: benznidazol e nifurtimox
- Controle do vetor importante: inseticida, erradicação de ninhos, construção de casas para prevenir os ninhos de insetos

Os protozoários do sangue e dos tecidos estão relacionados de maneira próxima aos protozoários parasitas intestinais em praticamente todos os aspectos, exceto por seus respectivos locais de infecção (Quadro 74-1). Os parasitas da malária (*Plasmodium* spp.) infectam tanto o sangue como os tecidos.



Quadro 74-1 Protozoários Sanguíneos e Teciduais de Importância Médica

Plasmodium spp.

Babesia spp.

Toxoplasma spp.

Sarcocystis spp.

Acanthamoeba spp.

Balamuthia spp.

Naegleria spp.

Leishmania spp.

Trypanosoma spp.

Espécies de Plasmodium

Os plasmódios são parasitas coccídios ou esporozoários das células vermelhas do sangue e, como ocorre com outros coccídios, exigem dois hospedeiros: o mosquito, para os estágios de reprodução sexuada; e o homem e outros animais, para os estágios de reprodução assexuada. A infecção por *Plasmodium* spp. (i.e., malária) é responsável por 1 a 5 bilhões de episódios febris e por 1 a 3 milhões de mortes anualmente, sendo 85% na África (Caso Clínico 74-1).



Caso Clínico 74-1 Malária

Mohin e Grupta (*Infect Dis Clin Pract* 15:209-212, 2007) descreveram um caso de malária severa por *Plasmodium vivax*. O paciente era um homem de 59 anos que relatou 1 dia de febre alta após retornar da Guiana, América do Sul. Ele não

ingeriu nenhum medicamento antes, durante ou após a viagem. Os sintomas eram semelhantes aos que ele apresentou quando adquiriu malária 5 anos antes, também na Guiana. Um esfregaço sanguíneo periférico como parte do diagnóstico inicial revelou numerosos eritrócitos com esquizontes compatíveis com infecção por *Plasmodium*, com parasitemia acima de 5%. Vários testes de sangue, incluindo uma reação em cadeia da polimerase (PCR), foram enviados para determinação da espécie do parasita. Foi iniciado o tratamento do paciente com quinina e doxiciclina oral considerando a possibilidade de malária resistente à cloroquina. Subsequentemente, durante os 4 dias seguintes, o paciente desenvolveu trombocitopenia grave, insuficiência renal não oligúrica, insuficiência respiratória aguda e insuficiência circulatória, mesmo com uma redução da parasitemia para menos de 0,5%. Ele foi tratado com quinidina intravenosa e recebeu transfusão sanguínea para tratar a infecção por *Plasmodium falciparum*, no momento suspeita, devido à gravidade dos sintomas. No dia seguinte, entretanto, os resultados da PCR do sangue revelaram que o parasita era *P. vivax* e não *P. falciparum*. O paciente gradualmente apresentou melhora e foi tratado com primaquina para prevenir recaídas.

Este caso mostra que, embora incomum, o comprometimento respiratório e circulatório pode complicar a malária por *P. vivax*. Tal organismo deve ser considerado se a condição do paciente piora, mesmo quando os níveis do parasita são relativamente baixos. Ao contrário do *P. falciparum*, as infecções por *P. vivax* apresentam o risco adicional de recaídas, o que exige o tratamento adequado. Este caso também enfatiza a importância da quimioprofilaxia e medidas de proteção individual para qualquer pessoa que planeja uma viagem a uma região endêmica para malária.

As cinco espécies de plasmódios que infectam os humanos são *P. falciparum. P. knowlesi, P. vivax, P. ovale* e *P. malariae* (Tabela 74-1). Essas espécies compartilham um ciclo biológico comum, conforme ilustrado na Figura 74-1. A infecção humana inicia com a picada de um mosquito *Anopheles*, que insere os **esporozoítos** infectantes do plasmódio no sistema circulatório por meio de sua saliva. Os esporozoítos são transportados até as células parenquimatosas do fígado, onde ocorre a reprodução assexuada (**esquizogonia**). Essa fase do crescimento é denominada **ciclo exoeritrocítico** e tem duração de 8 a 25 dias, dependendo da espécie de plasmódio. Algumas espécies (p.ex., *P. vivax, P. ovale*) podem estabelecer uma fase hepática dormente na qual os esporozoítos (chamados de **hipnozoítos** ou **formas adormecidas**) não se dividem. A presença desses plasmódios viáveis pode levar à recaída de infecções depois de meses e até anos da doença clínica inicial (recaídas de malária). Os hepatócitos eventualmente se rompem, liberando plasmódios (chamados de **merozoítos** nesse estágio), que por sua vez se fixam a receptores específicos na superfície dos eritrócitos e entram nas células, iniciando, assim, o ciclo eritrocítico.



Tabela 74-1

Parasitas da Malária Humana

Parasitas	Doença
Plasmodium vivax	Malária terçã benigna
P. ovale	Malária terçã benigna ou ovale
P. malariae	Malária quartã ou malárica
P. falciparum	Malária terçã maligna
P. knowlesi	Malária simiana ou cotidiana

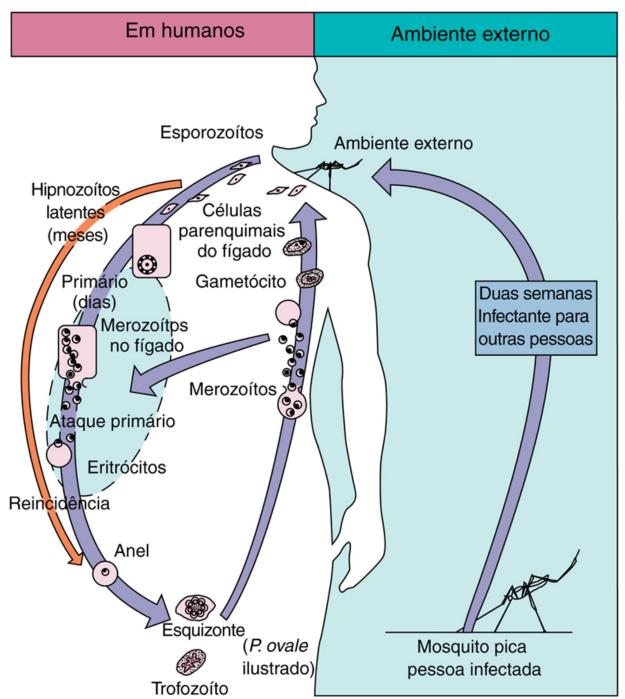


FIGURA 74-1 Ciclo biológico de espécies de Plasmodium.

A replicação assexuada progride através de uma série de estágios (trofozoíto jovem, trofozoíto maduro, esquizonte) que culminam na ruptura do eritrócito com liberação de até 24 merozoítos, que iniciam outro ciclo de replicação ao infectarem outros eritrócitos. Alguns merozoítos também se desenvolvem nos eritrócitos em **gametócitos** masculinos e femininos. Se um mosquito ingere gametócitos masculinos e femininos maduros quando realiza a hematofagia, o ciclo reprodutivo sexuado da malária pode ser iniciado, com eventual produção de esporozoítos infecciosos para o homem. Tal estágio de reprodução sexuada no mosquito é necessário para a manutenção da malária em uma população.

A maioria dos casos de malária observada nos Estados Unidos é adquirida por meio de visitantes ou de residentes de países onde a doença é endêmica (malária importada). Entretanto, o vetor adequado, o mosquito *Anopheles*, é encontrado em várias regiões dos Estados Unidos, e a transmissão doméstica da doença tem sido observada (malária introduzida). Além da transmissão por mosquitos, a malária também pode ser adquirida por transfusões de sangue proveniente de um doador infectado (malária de transfusão). Esse tipo de transmissão também pode ocorrer entre usuários de drogas injetáveis que compartilham agulhas e seringas. A aquisição por via congênita, embora rara, também é um meio possível de transmissão (malária congênita).

Plasmodium falciparum

Fisiologia e Estrutura

P. falciparum não apresenta seletividade quanto aos eritrócitos do hospedeiro e invade qualquer célula em qualquer estágio de sua existência. Também é possível a infecção de um único eritrócito por múltiplos merozoítos. Por isso, podem ser vistos

de três a quatro trofozoítos jovens em uma célula infectada (Fig. 74-2). *P. falciparum* é observado com frequência junto à extremidade ou periferia da membrana celular da célula hospedeira, aparecendo quase como se estivesse "preso" do lado de fora da célula (Fig. 74-2). A este fenômeno dá-se o nome de posição de *apliqué* ou *accolé*, que é uma característica que o distingue das outras espécies.

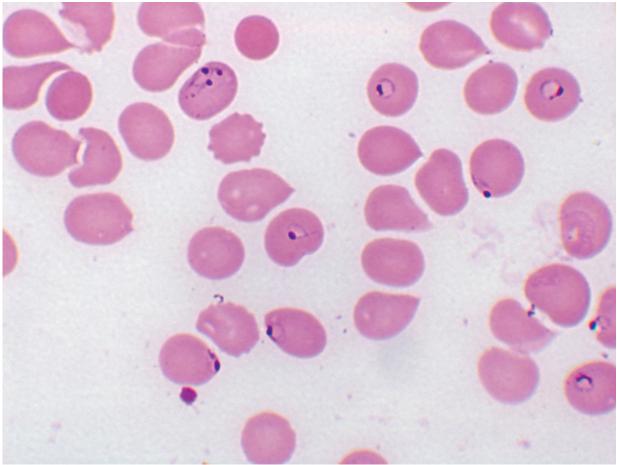


FIGURA 74-2 Estágios de trofozoítos jovens (forma de anel) de *Plasmodium falciparum*. Note as formas múltiplas e a posição de *appliqué* (ou *accolé*) no interior dos eritrócitos individuais, característica desse organismo.

Os estágios do crescimento sob as formas de trofozoíto e de esquizonte de *P. falciparum* raramente são vistos em esfregaços de sangue periférico, pois ficam sequestrados no fígado e no baço. Essas formas são encontradas na circulação periférica apenas em infecções muito graves. Por isso, os esfregaços sanguíneos de pacientes com malária causada por *P. falciparum* caracteristicamente contêm apenas trofozoítos jovens e de modo ocasional gametócitos. Os típicos gametócitos em forma de banana são estágios diagnósticos da espécie (Fig. 74-3). Os eritrócitos infectados não aumentam de tamanho nem ficam deformados como ocorre na infecção por *P. vivax* e *P. ovale*. Ocasionalmente, são observados grânulos avermelhados conhecidos como **granulações de Maurer** em *P. falciparum*.

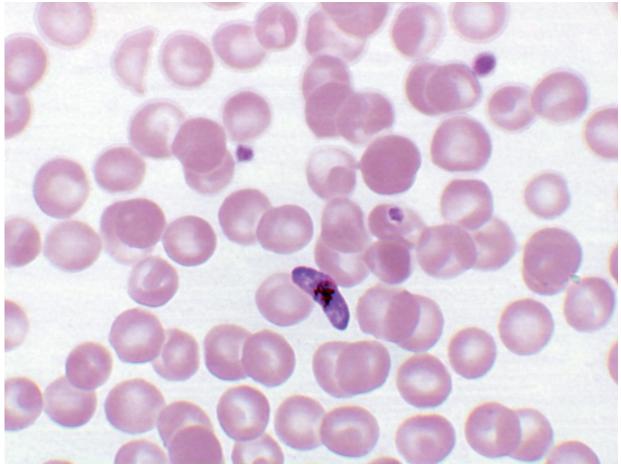


FIGURA 74-3 Gametócito maduro de *P. falciparum*. A presença deste estágio com forma de salsicha é diagnóstica da malária por *P. falciparum*.

P. falciparum, semelhante a P. knowlesi e P. malariae, não produz hipnozoítos no fígado. Recaídas a partir do fígado não foram descritas.

Epidemiologia

P. falciparum ocorre quase exclusivamente em regiões tropicais e subtropicais. Nessas regiões é comum haver coinfecção por HIV, o que pode representar um fator de risco para malária grave.

Síndromes Clínicas

O período de incubação de *P. falciparum* é o menor entre os plasmódios, variando de 7 a 10 dias, sem se estender por meses ou anos. Após os sintomas iniciais, semelhantes aos de gripe, *P. falciparum* rapidamente provoca calafrios e febre diários (**cotidianos**), bem como náuseas graves, vômitos e diarreia. A periodicidade dos ataques se torna **terçã** (36 a 48 horas), desenvolvendo uma doença fulminante. O termo **malária terçã maligna** é apropriado para essa infecção. Como os sintomas desse tipo de malária são semelhantes aos de infecções intestinais, sintomas de náuseas, vômito e diarreia levaram à observação de que a malária corresponde a uma "imitação maligna".

Embora qualquer infecção malárica possa ser fatal, a causada por *P. falciparum* é a que mais provavelmente resulta em morte se não for tratada. O aumento do número de eritrócitos infectados e destruídos resulta na produção de restos celulares tóxicos, aderência de hemácias ao endotélio vascular e a hemácias adjacentes, e obstrução de capilares por massas contendo hemácias, plaquetas, leucócitos e pigmento malárico.

O envolvimento do cérebro (malária cerebral) é mais frequentemente observado na infecção por *P. falciparum*. A obstrução capilar causada pelo acúmulo de pigmento malárico e massas de células pode levar ao coma e à morte.

A lesão renal também está associada à malária por *P. falciparum*, resultando em uma doença chamada **febre hemoglobinúrica (febre da urina negra)**. A hemólise intravascular com rápida destruição de hemácias produz uma hemoglobinúria marcante, resultando em falência renal aguda, necrose tubular, síndrome nefrótica e morte. O envolvimento do fígado é caracterizado por dor abdominal, vômito da bile, diarreia grave e rápida desidratação.

Diagnóstico Laboratorial

Realiza-se a pesquisa em esfregaços sanguíneos espessos e delgados dos trofozoítos jovens em forma de anel característicos de *P. falciparum*, que frequentemente são múltiplos em uma única célula, como na posição *accolé* (Fig. 74-2). Os característicos gametócitos em forma de banana também são diagnósticos (Fig. 74-3). Uma parasitemia de grau elevado (> 10% das hemácias infectadas) consistindo apenas em trofozoítos jovens é indicativa da infecção por *P. falciparum*, mesmo na ausência de gametócitos.

A equipe do laboratório deve realizar uma pesquisa completa nos esfregaços sanguíneos, podendo ocorrer infecções mistas com uma combinação qualquer das quatro espécies, sendo mais frequente a combinação de *P. falciparum* e *P. vivax*. A detecção e o relato adequado de uma infecção mista afetam diretamente a escolha do tratamento.

A detecção de antígenos utilizando um **teste rápido de diagnóstico (TRD)** vem sendo gradativamente empregada no diagnóstico *in locus* ou nos laboratórios como um adjuvante ao diagnóstico da microscopia convencional. A tecnologia dos TRDs usa tiras imunocromatográficas de fluxo lateral e anticorpos monoclonais espécie-específicos ou contra alvos pan-*Plasmodium*. Esses testes são simples, rápidos (resultados em < 20 minutos) e de baixo custo. Anticorpos monoclonais anti-*P. falciparum* têm sido desenvolvidos para **proteína 2 rica em histidina (HRP-2)** e lactato desidrogenase de *P. falciparum*. Alvos conservados em todas as malárias humanas (**antígenos pan-maláricos**) têm sido identificados nas enzimas **lactato desidrogenase do** *Plasmodium* (**PLDH**) e **aldolase**. Até hoje, um TRD foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA, Estados Unidos): o *kit* BinaxNOW Malaria (Binax, Scarborouh, Maine), baseado nos antígenos HRP-2 e aldolase. A sensibilidade e especificidade desse teste para a detecção de *P. falciparum* são de 95% e 94%, respectivamente.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da malária baseia-se na história do paciente, com relação à realização de viagens para áreas endêmicas, revisão clínica e diagnóstico diferencial imediatos, trabalho laboratorial rápido e preciso, e utilização correta de fármacos antimaláricos.

Como existem cepas de *P. falciparum* resistentes à cloroquina em todas as áreas endêmicas (África, sudeste da Ásia, América do Sul), com exceção da América Central e do Caribe, os médicos devem rever todos os atuais protocolos para o tratamento adequado das infecções por *P. falciparum*, atentando em particular para as áreas onde há resistência à cloroquina. Se a história do paciente indica que a origem não corresponde a uma área em que ocorra a resistência à cloroquina, o fármaco de escolha é tanto a cloroquina como a quinina parenteral. Pacientes infectados por *P. falciparum* (ou *P. vivax*) resistente à cloroquina podem ser tratados com outros agentes, incluindo mefloquina ± artesunato, artemetro-lumefantrina, atovaquona-proguanil (Malarone), quinina, quinidina, sulfadoxina-pirimetamina (Fansidar) e doxiciclina. Como a quinina e a sulfadoxina-pirimetamina são potencialmente tóxicas, são utilizadas com mais frequência para o tratamento que para a profilaxia. A amodiaquina, um análogo da cloroquina, é efetiva contra *P. falciparum* resistente à cloroquina, mas seu uso é limitado devido ao grau de toxicidade. Entre os agentes mais novos com excelente atividade contra cepas de *P. falciparum* resistentes a múltiplos fármacos estão os fenantreno metanóis, halofantrina e lumefantrina, e as artemisininas, artemetro e artesunato, ambos derivados de sesquiterpenos (Cap. 72).

Combinações das artemisinas de ação rápida com compostos antimaláricos já existentes ou introduzidos há pouco tempo têm apresentado grande eficácia tanto no tratamento como no controle da malária causada por *P. falciparum*. A redução rápida da biomassa do parasita (≈ 10⁸ vezes em 3 dias), promovida pelas artemisininas, deixa um número relativamente pequeno de organismos para o agente secundário (em geral, mefloquina ou lumefantrina) eliminar. Isso reduz consideravelmente a exposição da população de parasitas à mefloquina ou à lumefantrina, diminuindo assim as chances de escape de um mutante resistente que possa surgir durante a infecção. Combinações de artesunato com mefloquina e de artemetro com lumefantrina têm sido bem toleradas e altamente eficientes no tratamento da malária falcípara resistente a vários fármacos em indivíduos semi-imunes ou não imunes. Relatos preocupantes de tempos prolongados de eliminação dos parasitas têm sido observados em pacientes tratados com artesunato no oeste do Camboja, sugerindo a possível emergência de resistência a essa classe de agentes.

Embora o argumento para uma transfusão de hemácias na malária grave seja convincente, não existem estudos clínicos prospectivos comparando tal terapia com outras. Entretanto, a troca de hemácias (ou a troca de sangue total), caso disponível, deve ser considerada em casos de malária grave complicada por sinais clínicos de malária cerebral, lesão pulmonar aguda, hemólise grave com acidemia, choque ou um nível de parasitemia alto ou em elevação mesmo diante de uma terapia antimicrobiana intravenosa adequada. O uso de anticonvulsivantes (fenobarbital) e dexametasona na malária cerebral é provavelmente ineficaz ou prejudicial e não é recomendado.

Quando há dúvidas sobre a resistência de *P. falciparum* à cloroquina, aconselha-se assumir que a cepa seja resistente e tratar o paciente de maneira adequada. Se os registros do laboratório apontam uma infecção mista envolvendo *P. falciparum* e *P. vivax*, o tratamento deve erradicar não apenas *P. falciparum* das hemácias, mas também todos os estágios de *P. vivax* presentes no fígado para evitar recaídas. A falha laboratorial na detecção e no registro de tal infecção mista pode resultar em tratamento inadequado e atraso desnecessário na realização da cura completa.

Quimioprofilaxia e rápida erradicação de infecções são críticas na interrupção do ciclo de transmissão mosquito-homem. O controle da hematofagia do mosquito e proteção dos indivíduos através de diagnóstico de triagem, utilização de redes, roupas protetoras e repelentes de insetos são também essenciais. A resistência à cloroquina complica o acompanhamento desses pacientes, mas pode ser sobrepujada pela atenção do médico com relação à adequação dos regimes terapêuticos. Imigrantes e viajantes de áreas endêmicas devem ser investigados de modo cuidadoso utilizando-se esfregaços sanguíneos ou testes sorológicos para detectar possível infecção. O desenvolvimento de vacinas para a proteção das pessoas que vivem em áreas endêmicas ou viajantes está em estudo.

Plasmodium knowlesi é um parasita causador da malária de macacos do Velho Mundo (macaco-de-cauda-longa [Macaca fasicularis] e macaco-de-cauda-de-porco [Macaca nemestrina]. P. knowlesi é transmitido por membros do grupo de mosquitos Anopheles leucosphyrus que reside no estrato superior das florestas e tem contato pouco frequente com humanos. Diferentemente das outras malárias em primatas, P. knowlesi exibe pouca restrição à especificidade a hospedeiros e é transmissível em humanos sob condições naturais e experimentais, bem como em primatas. Semelhante ao P. falciparum, a invasão dos eritrócitos não é restrita a células jovens ou velhas, o que permite o desenvolvimento de elevados níveis de parasitemia. Essa espécie tem um ciclo de vida de 24 horas (cotidiano) e o desenvolvimento do parasita nos eritrócitos não é sincronizado. A infecção por P. knowlesi é frequentemente confundida com a causada por P. falciparum ou P. malariae, porque os trofozoítos iniciais lembram as formas de anel de P. falciparum e seus estágios maduros são semelhantes aos de P. malariae. Em contraste a P. falciparum, P. knowlesi não parece infiltrar-se na microvasculatura, e complicações neurológicas observadas na infecção por P. falciparum não têm sido descritas para P. knowlesi.

Eritrócitos infectados com *P. knowlesi* exibem morfologia normal, e todos os estágios de desenvolvimento podem ser visualizados no sangue periférico. *P. knowlesi*, semelhantemente a *P. falciparum* e *P. malariae*, parece não produzir hipnozoítos no fígado. Recaídas a partir do fígado não foram descritas.

Epidemiologia

Até hoje, as infecções humanas causadas por *P. knowlesi* têm sido descritas em altos números somente na Malásia; entretanto, considerando os relatos de infecção em países vizinhos da Tailândia, Singapura, Brunei, Indonésia, Mianmar, Vietnã e as Filipinas, parece que *P. knowlesi* é um parasita natural de macacos em toda a região do sudeste asiático.

Síndromes Clínicas

Os perfis clínicos e laboratoriais da infecção por *P. knowlesi* são semelhantes àqueles de pacientes infectados com outras espécies causadoras de malária. Os pacientes tipicamente apresentam doença febril inespecífica, com febre diária e calafrios. Outros sintomas frequentes incluem cefaleia, rigidez, mal-estar, dor abdominal, falta de ar e tosse produtiva. Taquipneia, febre e taquicardia são sinais clínicos comuns. Trombocitopenia e disfunção hepática moderada requerendo internação hospitalar são comuns.

Por volta de 7% dos casos de infecção por *P. knowlesi* têm sido considerados graves com base nos critérios da Organização Mundial da Saúde, sendo que a mais frequente complicação é a dificuldade respiratória com etiologia pulmonar mais provável que metabólica. Óbitos e doença grave resultam da falência pulmonar e hepatorrenal. A severidade da infecção está relacionada com elevados níveis de parasitemia produzidos pelo rápido e singular ciclo eritrocítico de 24 horas e com sua capacidade de infectar todos os estágios eritrocitários. É fortemente recomendado que a infecção por *P. knowlesi* seja considerada nos casos em que o exame microscópico sugira *P. malariae*, mas que o paciente tenha doença grave, hiperparasitemia (> 0,1%; i.e., > 5.000 parasitas/μL), ou recente história de visitação a florestas ou vizinhanças no sudeste asiático.

Diagnóstico Laboratorial

Enquanto os trofozoítos jovens de *P. knowlesi* são morfologicamente semelhantes aos de *P. falciparum*, os estágios de trofozoíto maduro, esquizonte e gametócitos são indistinguíveis daqueles de *P. malariae* por microscopia de luz. Dicas úteis de identificação de *P. knowlesi* por microscopia, quando presentes, incluem: trofozoítos jovens na forma de anel com citoplasma delgado, dupla cromatina e dois a três parasitas por eritrócito (lembrando *P. falciparum*); trofozoítos com aparência de olho de pássaro e/ou trofozoítos maduros com aparência de banda equatorial lembrando *P. malariae* e esquizontes maduros com uma contagem média de merozoítos mais alta (16/eritrócito) que a de *P. malariae* (10 a 12/eritrócito). A reação em cadeia da polimerase (PCR)-*P. knowlesi*-específica é a única maneira de identificar essa espécie emergente de *Plasmodium*.

Até hoje, nenhum TRD comercialmente disponível foi desenvolvido para detectar especificamente *P. knowlesi*. O desempenho desses TRDs que têm como alvos sobretudo *P. falciparum* e *P. vivax* na infecção por *P. knowlesi* tem sido relatado em alguns casos. A PLDH produzida pelas outras quatro espécies de *Plasmodium* causadoras de malária humana também está presente em *P. knowlesi*. Os anticorpos contra os alvos pan-malária PLDH e aldolase também reagem de forma cruzada com aqueles de *P. knowlesi*. Até o momento, os TRDs não são recomendados devido aos resultados não reprodutíveis e à baixa sensibilidade na detecção de *P. knowlesi*.

Tratamento, Prevenção e Controle

Considerando a potencial severidade da infecção por *P. knowlesi*, esta deve ser monitorada como a malária por *P. falciparum* quando a identificação da espécie é baseada somente na microscopia ou quando a coinfecção com *P. falciparum* não pode ser excluída com certeza utilizando PCR. *P. knowlesi* sozinho parece ser suscetível a numerosas opções terapêuticas, com a maioria dos pacientes respondendo prontamente à cloroquina. Assim como para *P. falciparum*, recaídas a partir do fígado não foram descritas.

A prevenção da infecção por *P. knowlesi* está baseada em evitar picadas de mosquitos e utilizar medicamento profilático quando indicado. Ainda que as precauções gerais para evitar as picadas de mosquitos *Anopheles* provavelmente se apliquem, deve ser reconhecido que as medidas domésticas usuais de controle da malária não previnem a transmissão

zoonótica dessa doença por vetores que se alimentam sobremaneira na floresta. A infecção zoonótica por *P. knowlesi* é provavelmente um dos problemas para o controle da malária.

Plasmodium vivax

Fisiologia e Estrutura

O *P. vivax* (Fig. 74-4) é seletivo no sentido de que só invade eritrócitos jovens e imaturos. Embora o **antígeno sanguíneo de Duffy** na superfície celular dos eritrócitos tenha sido considerado o receptor primário para *P. vivax* (Cap. 69), malária *vivax* clínica tem sido recentemente relatada em indivíduos Duffy-negativos em Madagascar. As moléculas do hospedeiro e do parasita que permitem essa invasão de *P. vivax* Duffy-independente em eritrócitos humanos não são conhecidas. Nas infecções causadas por *P. vivax*, os eritrócitos infectados quase sempre estão maiores e contêm numerosos grânulos cor-de-rosa ou **granulações de Schüffner**, o trofozoíto jovem tem a forma de um anel e aparência ameboide, os trofozoítos mais maduros e esquizontes eritrocíticos contêm até 24 merozoítas, e os gametócitos são redondos. Muitas vezes os esquizontes maduros contêm grânulos de pigmento **hemozoína** marrom-dourado (**pigmento malárico**).

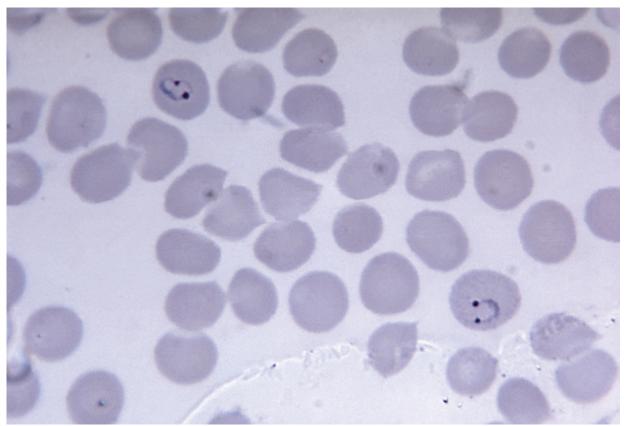


FIGURA 74-4 Trofozoítos jovens (formas de anel) de *P. vivax* com dupla cromatina. Essa característica é mais comum no *Plasmodium falciparum* que no *P. vivax*. Trofozoítos jovens de *P. vivax* apresentam uma grande quantidade de citoplasma e uma grande cromatina, bem como, ocasionalmente, pseudópodes. Os eritrócitos são aumentados até 1,5 vezes o tamanho normal, redondos, e contêm delicadas granulações de Schüffner. (De CDC Public Health Image Library)

Epidemiologia

Plasmodium vivax é o plasmódio humano mais prevalente, com maior distribuição geográfica, incluindo trópicos, subtrópicos e regiões temperadas. A surpreendente maioria dos casos clínicos de malária vivax (> 80%) ocorre na América do Sul e sudeste asiático.

Síndromes Clínicas

Após um período de incubação (em geral, 10 a 17 dias), o paciente apresenta sintomas vagamente semelhantes aos de uma gripe, com dores de cabeça, dores musculares, fotofobia, anorexia, náuseas e vômitos.

Conforme a infecção progride, um número aumentado de eritrócitos se rompe e libera merozoítos, bem como restos celulares tóxicos e hemoglobina na circulação. Consequentemente, há produção de um padrão típico de tremores, febre e calafrios. Esses **paroxismos** costumam reaparecer periodicamente (geralmente, a cada 48 horas), conforme o ciclo de infecção, replicação e lise celular progride. Os paroxismos podem permanecer relativamente moderados ou progredir para ataques graves, com horas de sudorese, calafrios, tremores, temperaturas persistentemente elevadas (39,4 a 41,1°C) e exaustão.

O *P. vivax* é o causador da **"malária terçã benigna"**, que se refere ao ciclo de paroxismos a cada 48 horas (em pacientes não tratados) e à crença de que a maioria dos pacientes tolera os ataques e pode sobreviver durante anos sem tratamento. Recente evidência, entretanto, sugere que *P.* vivax pode causar um espectro de síndromes graves e com risco de morte muito semelhantes àquelas causadas por *P. falciparum*. Relatos de malária *vivax* marcados por delírio, epilepsia, falência renal, choque, disfunção hepática, anemia grave, dano pulmonar, edema pulmonar e angústia respiratória aguda têm ocorrido no sul e sudeste da Ásia, Oriente Médio e América do Sul. Da mesma maneira, caso não sejam tratadas, as infecções crônicas por *P. vivax* podem causar danos ao cérebro, rins e fígado como resultado da deposição de pigmento malárico, restos celulares e entupimento de capilares por massas de eritrócitos aderentes nesses órgãos.

Diagnóstico Laboratorial

O exame microscópico de esfregaços sanguíneos espessos e delgados é o método de escolha para confirmar o diagnóstico clínico de malária e para identificar espécies específicas que sejam responsáveis pela doença. O esfregaço espesso (ou gota espessa) é um método de concentração e pode ser usado para detectar a presença dos organismos. Com treinamento, os esfregaços espessos também podem ser utilizados para diagnosticar espécies. O esfregaço delgado é mais útil no estabelecimento da identificação das espécies. Esfregaços de sangue podem ser obtidos a qualquer tempo durante o curso da infecção, porém o melhor momento é entre os paroxismos de calafrios e febre, quando o maior número de organismos intracelulares está presente. Pode ser necessário repetir a obtenção dos esfregaços em intervalos de 4 a 6 horas.

Procedimentos sorológicos estão disponíveis, porém estes só são utilizados primariamente para estudos epidemiológicos ou para triagem de doadores de sangue. A sorologia geralmente permanece positiva durante cerca de 1 ano, mesmo após o tratamento completo da infecção. TRDs podem ser utilizados juntamente com a microscopia no diagnóstico da malária causada por *P. vivax*; entretanto, a sensibilidade é na maioria das vezes muito mais baixa que para a detecção de *P. falciparum*: 69% versus 94%, respectivamente.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da infecção por *P. vivax* envolve uma combinação de medidas de suporte e quimioterapia. Repouso, alívio da febre e da cefaleia, controle do balanço hídrico e, em alguns casos, transfusão de sangue são terapias de apoio.

Os regimes quimioterápicos são:

- 1. Supressivo: visa evitar a infecção e os sintomas clínicos (i.e., uma forma de profilaxia)
- 2. Terapêutico: objetiva erradicar o ciclo eritrocítico
- 3. Cura radical: objetiva erradicar o ciclo exoeritrocítico no fígado
- 4. Gametocida: objetiva destruir os gametócitos eritrocíticos para prevenir a transmissão pelo mosquito

A cloroquina é o fármaco de escolha para a supressão e o tratamento terapêutico de *P. vivax*, seguida da primaquina para a cura radical e eliminação dos gametócitos. Formas de *P. vivax* cloroquinarresistentes têm surgido na Indonésia, nas Ilhas Salomão, Nova Guiné e no Brasil. Pacientes infectados com essas formas resistentes de *P. vivax* podem ser tratados com outros agentes, incluindo mefloquina ± artesunato, quinina, sulfadoxina-pirimetamina (Fansidar®) e doxiciclina. A primaquina é especialmente efetiva na prevenção da recaída de formas latentes de *P. vivax* no fígado. Como os medicamentos antimaláricos são potencialmente tóxicos, é imperativo que os médicos tenham cuidado ao recomendarem regimes terapêuticos.

Plasmodium ovale

Fisiologia e Estrutura

O *P. ovale* é semelhante ao *P. vivax* em muitos aspectos, incluindo sua seletividade por eritrócitos jovens e flexíveis. Como consequência, a célula hospedeira se torna maior e deformada, adquirindo usualmente uma forma oval. As granulações de Schüffner aparecem como grânulos de cor rosa-pálida, e as bordas da célula se apresentam frequentemente fimbriadas ou dentadas. O esquizonte de *P. ovale*, quando maduro, contém cerca de metade do número de merozoítos observado para *P. vivax*, e o pigmento malárico tem cor marrom-escura.

Epidemiologia

P. ovale distribui-se primariamente pela África tropical, onde muitas vezes é mais prevalente que *P. vivax*. Também é encontrado na Ásia e na América do Sul.

Síndromes Clínicas

O perfil clínico dos ataques terções na infecção por *P. ovale* (terçã benigna ou malária *ovale*) é semelhante ao de *P. vivax*. Infecções não tratadas duram cerca de 1 ano, em vez de vários anos como para *P. vivax*. Ambas as fases de recaída e recrudescência são similares às de *P. vivax*.

Diagnóstico Laboratorial

Assim como para *P. vivax*, esfregaços sanguíneos espessos e delgados são examinados para pesquisa de células hospedeiras ovais típicas contendo granulações de Schüffner e uma parede celular irregular. Testes sorológicos revelam reação cruzada com *P. vivax* e outros plasmódios. TRDs não são recomendados para o diagnóstico da infecção por *P. ovale*.

Tratamento, Prevenção e Controle

O regime de tratamento, incluindo o uso de primaquina para prevenir recaídas a partir de formas latentes que possam estar no fígado, é semelhante ao utilizado para infecções por *P. vivax*. A prevenção das infecções causadas por *P. ovale* envolve as mesmas medidas que são tomadas para prevenir infecções por *P. vivax* e outros plasmódios.

Plasmodium malariae

Fisiologia e Estrutura

Contrastando com *P. vivax* e *P. ovale, P. malariae* infecta apenas eritrócitos maduros com membranas celulares relativamente rígidas. Como resultado, o crescimento do parasita deve se acomodar ao tamanho e à forma do eritrócito. Diferentemente do que se observa com *P. vivax* e *P. ovale,* a hemácia não aumenta de tamanho nem sofre deformação em decorrência do crescimento do parasita, e se nota que o parasita apresenta formas diferentes na célula hospedeira: "formas de fita e de barra", e também formas muito compactas e de coloração escura. O esquizonte de *P. malariae* não causa alargamento ou deformação da hemácia, sendo usualmente composto por oito merozoítos que formam uma roseta circundando um grânulo central de pigmento marrom-escuro. De modo ocasional, grânulos avermelhados chamados de **granulações de Ziemann** são observados na célula hospedeira.

Diferentemente de *P. vivax* e *P. ovale*, não são encontrados hipnozoítos de *P. malariae* no fígado e não ocorrem recaídas. Há recrudescência e pode haver o desenvolvimento de ataques após uma diminuição aparente dos sintomas.

Epidemiologia

A infecção por *P. malariae* ocorre primariamente nas mesmas regiões subtropicais e temperadas onde os outros plasmódios ocorrem, porém de modo menos prevalente.

Síndromes Clínicas

O período de incubação do *P. malariae* é o maior entre os plasmódios, geralmente de 18 a 40 dias, mas pode durar vários meses a anos. Os primeiros sintomas são semelhantes aos de uma gripe, com padrões de febre com periodicidade de 72 horas (malária malárica ou quartã). Os ataques variam de moderados a graves e duram várias horas. Infecções não tratadas podem durar 20 anos.

Diagnóstico Laboratorial

A observação dos característicos trofozoítos em **forma de fita e de barra e do esquizonte em roseta** em esfregaços sanguíneos espessos e delgados estabelece o diagnóstico da infecção por *P. malariae*. Nota-se que os testes sorológicos mostram reação cruzada com outros plasmódios. TRDs não são recomendados para o diagnóstico da infecção por *P. malariae*.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento é semelhante ao que se usa para tratar infecções causadas por *P. vivax* e *P. ovale* e deve ser realizado para prevenir infecções recrudescentes. O tratamento para prevenção de recaídas causadas por formas latentes presentes no fígado não é necessário, uma vez que tais formas não se desenvolvem a partir de *P. malariae*. Os mecanismos de prevenção e controle são os mesmos discutidos para *P. vivax* e *P. ovale*.

Espécies de *Babesia*

Babesia spp. são esporozoários parasitas intracelulares, morfologicamente semelhantes aos plasmódios. A babesiose é uma zoonose que acomete vários animais, como os veados, gado e roedores; o homem é um hospedeiro acidental. A infecção é transmitida por carrapatos *Ixodes*. Babesia microti é o causador usual da babesiose nos Estados Unidos.

Fisiologia e Estrutura

A infecção humana ocorre por meio do contato com um carrapato infectado (Fig. 74-5). Os corpos piriformes infectantes são inseridos na corrente sanguínea e infectam os eritrócitos. Os trofozoítos intraeritrocíticos se multiplicam por fissão binária, formam tétrades e lisam o eritrócito, liberando os merozoítos. Estes podem reinfectar outras células para manter a infecção. As células infectadas também podem ser ingeridas por carrapatos que estejam se alimentando, ocorrendo mais uma replicação. A infecção da população de carrapatos também pode ser mantida através de transmissão transovariana. No ser humano, as células infectadas são semelhantes às formas trofozoíticas de *P. falciparum*, porém o pigmento malárico e os outros estágios do crescimento caracteristicamente observados nas infecções por plasmódios não são observados em um exame cuidadoso de esfregaços sanguíneos (Fig. 74-6).

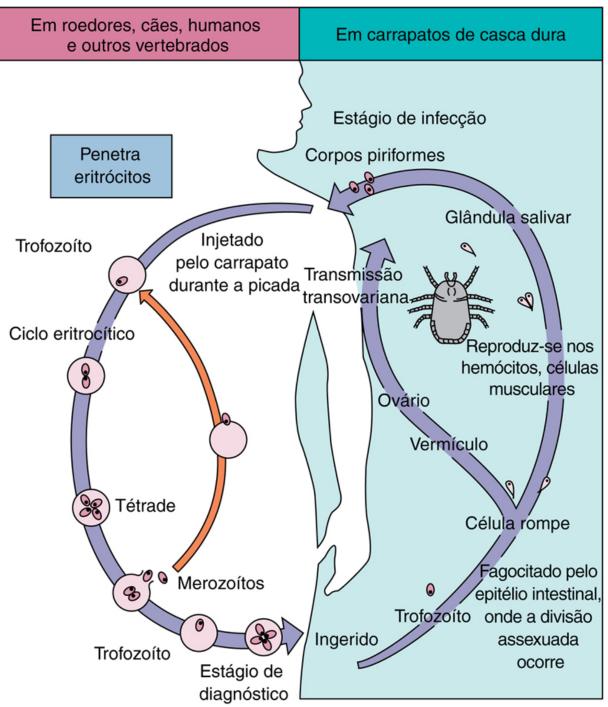


FIGURA 74-5 Ciclo biológico de espécies de Babesia.

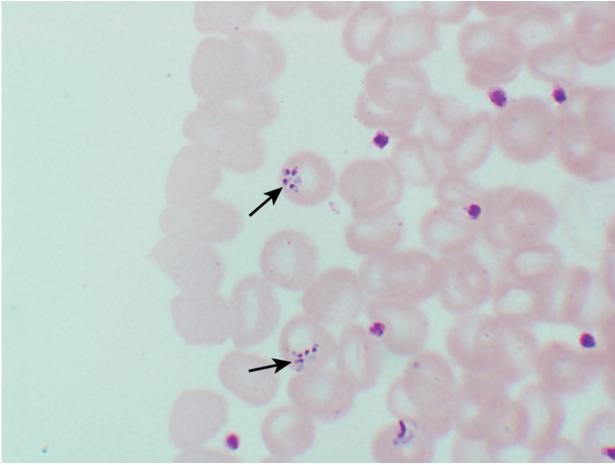


FIGURA 74-6 Trofozoítos jovens (formas de anel) de *Babesia microti*. Note as formas múltiplas (*setas*) no interior dos eritrócitos individuais e a similaridade com aquelas de *Plasmodium falciparum* na Figura 74-3.

Epidemiologia

Mais de 70 espécies diferentes de *Babesia* foram encontradas na África, Ásia, Europa e América do Norte, com *B. microti* sendo responsável pela doença ao longo da costa oceânica a nordeste dos Estados Unidos (p.ex., Ilhas Nantucket, Martha's Vineyard, Shelter Island). *Ixodes dammini* é o carrapato vetor responsável pela transmissão da babesiose nessa área, e os hospedeiros que atuam como reservatórios naturais são camundongos, arganazes e outros pequenos roedores. Estudos sorológicos realizados em áreas endêmicas demonstraram uma elevada incidência de exposição anterior à *Babesia*. Presumivelmente, a maioria das infecções é assintomática ou moderada. *Babesia divergens*, que tem sido registrada com mais frequência na Europa, causa infecções graves e muitas vezes fatais na população de esplenectomizados. Tem sido observada uma parasitemia grave e persistente de *B. microti* em pacientes imunossuprimidos infectados com HIV que apresentam baço intacto. Embora a maioria das infecções ocorra através das picadas dos carrapatos, infecções associadas a transfusões também foram demonstradas e vêm aumentando os casos de transmissão de *B. microti* por transfusão sanguínea nos Estados Unidos. Uma recente explosão nos casos de babesiose transmitida por transfusão (BTT) atribuída a *B. microti* culminou com pelo menos 12 óbitos de receptores de transfusão diagnosticados com babesiose, levando a elevada BTT a caso de polícia na medicina transfusional.

Síndromes Clínicas

Após um período de incubação de 1 a 4 semanas, os pacientes sintomáticos passam por uma indisposição generalizada, febre sem periodicidade, dor de cabeça, calafrios, sudorese, fadiga e fraqueza. Conforme a infecção progride com aumento da destruição dos eritrócitos, há o desenvolvimento de uma anemia hemolítica e o paciente pode apresentar falência renal. Hepatomegalia e esplenomegalia podem se desenvolver na doença avançada. Pode haver persistência de uma parasitemia de baixo grau durante semanas. Esplenectomia ou asplenia funcional, imunossupressão, infecção por HIV e idade avançada do indivíduo são fatores que aumentam a suscetibilidade de uma pessoa à infecção, bem como levam à maior gravidade da doença.

Diagnóstico Laboratorial

O exame de esfregaços sanguíneos é o método diagnóstico de escolha. A equipe laboratorial deve ter experiência na diferenciação entre espécies de *Babesia* e *Plasmodium*. *Babesia* pode mimetizar *P. falciparum*, visto que os eritrócitos infectados podem apresentar múltiplos pequenos trofozoítos jovens (Fig. 74-6). Pacientes infectados podem apresentar esfregaços

negativos devido ao baixo grau de parasitemia. Essas infecções podem ser diagnosticadas através da inoculação de amostras de sangue em *hamsters*, que são muito suscetíveis à infecção. Testes sorológicos e a amplificação de ácido desoxirribunucleico (DNA) babesial por PCR também estão disponíveis para uso diagnóstico.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento de escolha para doença leve a moderada é a combinação de atovaquona e azitromicina, enquanto clindamicina e quinina e transfusão sanguínea são indicadas para os casos graves da doença. Outros regimes antiprotozoários, incluindo cloroquina e pentamidina, têm sido utilizados com resultados variáveis. Contudo, a maioria dos pacientes com doença moderada se recupera sem uma terapia específica. A transfusão sanguínea também tem sido bemsucedida no tratamento de pacientes que sofreram esplenectomia e que apresentaram infecções graves causadas por *B. microti* ou *B. divergens*. O uso de roupas de proteção e repelentes de insetos pode minimizar a exposição ao carrapato em áreas endêmicas, o que é crítico para a prevenção da doença. Os carrapatos devem se alimentar no homem durante várias horas antes que os organismos sejam transmitidos, de forma que a remoção imediata dos carrapatos pode ser protetora.

Toxoplasma gondii

Toxoplasma gondii é um coccídio parasita típico, relacionado com *Plasmodium*, *Cystoisospora* e outros membros do filo Esporozoa. *T. gondii* é um parasita intracelular encontrado em uma grande variedade de animais, incluindo pássaros e humanos. Só existe uma espécie, parecendo apresentar pouca variação entre as cepas. O hospedeiro que atua como reservatório essencial de *T. gondii* é o gato doméstico comum e outros felinos.

Fisiologia e Estrutura

Os organismos se desenvolvem nas células intestinais do gato, bem como durante o ciclo extraintestinal com a passagem para os tecidos através da circulação sanguínea (Fig. 74-7). Os organismos do ciclo intestinal são eliminados nas fezes do gato e amadurecem se transformando em cistos infectantes no meio ambiente dentro de 3 a 4 dias. Esses oocistos são semelhantes aos de *Cystoisospora belli*, o protozoário parasita intestinal humano, podendo ser ingeridos por camundongos e outros animais (inclusive o ser humano) e produzir infecção aguda e crônica em vários tecidos, incluindo o cérebro. Nos gatos, a infecção se estabelece quando o animal ingere tecidos de roedores infectados.

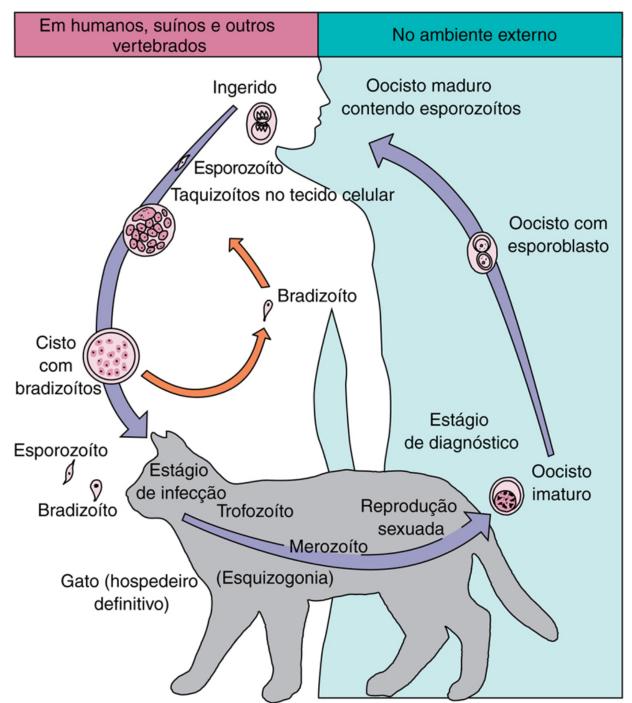


FIGURA 74-7 Ciclo biológico de Toxoplasma gondii.

Algumas formas infectantes (**trofozoítos**) do oocisto se desenvolvem como tipos delgados e em crescente, chamados de **taquizoítos**. Essas formas que se multiplicam rapidamente são responsáveis pela infecção inicial e pela lesão tecidual. Formas menores e de crescimento lento chamadas de **bradizoítos** também se desenvolvem e formam cistos nas infecções crônicas.

Epidemiologia

A infecção humana por *T. gondii* é ubíqua; porém tem se tornado mais aparente que certos indivíduos imunocomprometidos (pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida [AIDS]) são mais propícios ao desenvolvimento de manifestações graves. A grande variedade de animais que abrigam o organismo, carnívoros e herbívoros, bem como pássaros, contribui para transmissão amplamente disseminada.

O ser humano pode ser infectado a partir de duas fontes: (1) ingestão de carne cozida de forma inadequada, obtida de animais que servem de hospedeiros intermediários; e (2) ingestão dos oocistos infectantes a partir das fezes de um gato contaminado. Estudos sorológicos mostram uma prevalência maior em populações humanas em que o consumo de carne crua ou de caldos de carne é popular. Destaca-se o fato de que testes sorológicos de populações humanas e de roedores são negativos nas poucas áreas geográficas onde não existem gatos. Surtos de toxoplasmose nos Estados Unidos geralmente são determinados por carne malcozida (p.ex., hambúrguer), assim como pelo contato com fezes de gato.

A infecção transplacentária pode ocorrer na gravidez, tanto a partir da infecção adquirida por meio da ingestão de carne e de caldos de carne como por meio do contato com as fezes de gato. A infecção transplacentária a partir de uma mãe

infectada tem efeito devastador sobre o feto. A infecção através da transfusão de sangue contaminado pode ocorrer, mas não é comum. O compartilhamento de agulhas entre usuários de drogas injetáveis também pode facilitar a transmissão de *Toxoplasma*.

Embora a taxa de soroconversão seja similar entre os indivíduos em uma mesma localização geográfica, a taxa de infecção grave é afetada dramaticamente pelo estado imunológico do indivíduo. Pacientes com defeitos de imunidade celular, sobretudo aqueles que estão infectados com HIV, ou que passaram por um transplante de órgão ou por uma terapia imunossupressora, são mais propensos a ter uma doença disseminada, ou uma doença do sistema nervoso central (SNC). Nesse caso, quase sempre se acredita que a enfermidade seja causada mais pela reativação de uma infecção prévia latente que por uma nova exposição ao organismo.

Síndromes Clínicas

A maioria das infecções por *T. gondii* são benignas e assintomáticas, com os sintomas ocorrendo à medida que o parasita se move do sangue para os tecidos, onde se torna um parasita intracelular. Quando ocorre uma doença sintomática, a infecção é caracterizada por destruição celular, reprodução de mais organismos e eventual formação de cistos. Muitos tecidos podem ser afetados; entretanto, o organismo tem uma predileção especial pelas células do pulmão, coração, órgãos linfoides e SNC, incluindo os olhos (Caso Clínico 74-2).



Caso Clínico 74-2 Toxoplasmose

Vincent et al. (*Infect Med* 23:390, 2006) descreveram um caso de uma mulher com 67 anos com história de 3 anos de doença de Hodgkin, que recebeu quimioterapia seguida de transplante de células-tronco autólogas. Imediatamente após, ela apresentou febre e neutropenia, e o tratamento com antibióticos de amplo espectro foi iniciado. Os resultados das culturas de urina e sangue foram negativos. Após resolução da neutropenia (1 mês pós-transplante), ela desenvolveu confusão e letargia. Exames de imagem do cérebro revelaram microinfartos em ambos os hemisférios e no mesencéfalo. Dados de punção lombar foram inconclusivos. Com base na suspeita de toxoplasmose, pirimetamina e sulfadiazina foram associadas ao tratamento da paciente. Desenvolveu-se necrólise epidérmica tóxica, e a sulfadiazina foi interrompida e substituída por clindamicina. Seguiu-se falência múltipla dos órgãos, e a paciente faleceu 1 semana após. Na autópsia, formas císticas com bradizoítos foram detectadas no cérebro e no coração da mulher. Achados histopatológicos e coloração imuno-histoquímica confirmaram o diagnóstico de toxoplasmose disseminada.

Toxoplasmose disseminada é rara, em especial após transplante de células-tronco autólogas. A provável causa de reativação e disseminação de *Toxoplasma* nesta paciente foi a imunossupressão mediada por células associada à doença de Hodgkin e seu tratamento. Além do cérebro, o coração, fígado e pulmões são frequentemente envolvidos nos casos de toxoplasmose disseminada.

Os sintomas de doença aguda são calafrios, febre, dor de cabeça, mialgia, linfadenite e fadiga. Os sintomas ocasionalmente se assemelham aos da mononucleose infecciosa. Na doença crônica, os sinais e sintomas são linfadenite, de modo ocasional erupções, evidência de hepatite, encefalomielite e miocardite. Em alguns casos, há uma coriorretinite que pode levar à cegueira.

A infecção congênita com *T. gondii* também ocorre em bebês nascidos de mães infectadas durante a gravidez. Se ocorrer uma infecção no primeiro trimestre, o resultado será um aborto espontâneo, natimorto ou doença grave. As manifestações que o bebê infectado após o primeiro trimestre apresenta são epilepsia, encefalite, microcefalia, calcificações intracranianas, hidrocefalia, retardo psicomotor ou mental, coriorretinite, cegueira, anemia, icterícia, erupções, pneumonia, diarreia e hipotermia. Os bebês podem ser assintomáticos ao nascimento, somente desenvolvendo a doença meses ou anos mais tarde. Na maioria das vezes, essas crianças desenvolvem **coriorretinite** com ou sem cegueira ou outros problemas neurológicos, incluindo retardo, ataques epiléticos, microcefalia e perda auditiva.

Em pacientes imunocomprometidos e mais velhos, observa-se um espectro diferente da doença. A reativação de toxoplasmose latente é um problema especial para essas pessoas. Os sintomas apresentados na infecção por *Toxoplasma* em pacientes imunocomprometidos na maioria das vezes são neurológicos, com mais frequência consistentes com uma encefalopatia difusa, meningoencefalite ou lesões da massa cerebral. A reativação da toxoplasmose cerebral tem emergido como a principal causa de encefalite em pacientes com AIDS. A doença geralmente é multifocal, com mais de uma lesão aparecendo no cérebro ao mesmo tempo. Os sintomas estão relacionados com a localização das lesões e podem ser hemiparesia, ataques epiléticos, comprometimento visual, confusão e letargia. Outros pontos de infecção relatados foram olho, pulmão e testículo. Apesar de a doença ser predominante em pacientes aidéticos, também pode ocorrer com manifestações similares em outros pacientes imunocomprometidos, em particular naqueles que receberam transplante de órgão sólido.

Diagnóstico Laboratorial

É necessário realizar teste sorológico para diagnosticar a infecção aguda ativa. O diagnóstico é estabelecido pela detecção de títulos aumentados de anticorpos em amostras de sangue coletadas em série. Como o contato com o organismo é comum,

realizar ensaios para identificação dos isótipos dos anticorpos e atentar para a elevação dos títulos é essencial para diferenciar a infecção aguda, ativa, de uma infecção prévia assintomática ou crônica. Um painel de testes citado como padrão sorológico de *T. gondii* (PST) é utilizado por laboratórios especializados de referência para determinar se a infecção é consistente com uma aquisição recente ou mais antiga. O PST consiste em: (1) teste de coloração Sabin-Feldman para medir anticorpos imunoglobulina (Ig)G; (2) ensaios imunossorventes ligados à enzima (ELISA) para determinar anticorpos IgM, IgA e IgE; (3) ensaio de imunoaglutinação (ISAGA) para determinar os níveis de anticorpos IgE; e (4) teste de aglutinação diferencial para determinar os níveis de anticorpos IgG.

A avaliação inicial de um paciente imunocompetente envolve a realização de uma triagem para detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*. Apesar de muitos estudos e diretrizes sugerirem a utilidade de se realizar um teste de IgM em paralelo, os anticorpos IgM anti-*T. gondii* podem persistir por mais de 12 meses após a infecção aguda, levando a um resultado falsopositivo. Se os títulos de IgG são equivocados, amostras de sangue devem ser coletadas em série em 3 semanas e testadas paralelamente. Se o título de IgG for negativo (< 1:16), a infecção por *T. gondii* é descartada. Um aumento de duas vezes no título de anticorpos indica uma infecção aguda, assim como a conversão de um resultado negativo em positivo. A detecção de um único título de anticorpo elevado não é suficiente para o diagnóstico da toxoplasmose, uma vez que os títulos de IgG podem permanecer elevados por muitos anos após a infecção.

Em pacientes com malignidades, transplantados ou aidéticos, geralmente se considera que a toxoplasmose surja a partir da reativação de uma infecção crônica assintomática (latente). O diagnóstico de encefalite por *Toxoplasma* quase sempre envolve uma TC ou estudo de ressonância magnética nuclear do cérebro. Entretanto, as anormalidades cerebrais associadas a *Toxoplasma* podem ser indistinguíveis daquelas causadas por linfoma cerebral relacionado com a AIDS ou doença de Chagas cerebral. Portanto, microscopia e técnicas sorológicas e moleculares devem ser utilizadas para o diagnóstico definitivo. Para tais pacientes, o diagnóstico pode ser bem difícil; usualmente não se detectam anticorpos do tipo IgM, e a presença de IgG apenas confirma uma infecção anterior. Na ausência de evidências sorológicas de infecção aguda, o diagnóstico só pode ser confirmado mediante a detecção histológica de organismos nos tecidos ou por meio da detecção de ácidos nucleicos por PCR. Pacientes imunossuprimidos e negativos para anticorpos IgG correm risco de ter uma infecção aguda adquirida, ao passo que pacientes soropositivos correm risco de uma reativação.

Os métodos usados para diagnosticar a toxoplasmose aguda em mulheres grávidas são os mesmos utilizados para adultos imunocompetentes. A FDA lançou alerta aos médicos contra o uso de *kits* comerciais para detecção de IgM anti-*T. gondii* como único método para diagnóstico durante a gravidez, devido à elevada frequência de resultados falso-positivos e falso-negativos nessas pacientes. É altamente recomendável a realização de testes de confirmação em um laboratório de referência em *Toxoplasma*. Se os anticorpos IgM e IgG não forem detectados, a possibilidade de uma infecção ativa pode ser excluída.

O diagnóstico pré-natal de toxoplasmose congênita pode ser realizado por meio de ultrassonografia e amniocentese. A análise do líquido amniótico por PCR para detecção de *T. gondii* é o teste de escolha, oferecendo excelentes valores preditivos positivos e negativos. Uma vez que anticorpos IgG maternos estão presentes em recém-nascidos, a detecção de IgA e IgM é fundamental para o sorodiagnóstico da toxoplasmose em neonatos.

A demonstração desses organismos, como trofozoítos e cistos, em tecidos e fluidos corporais é o método de diagnóstico definitivo (Fig. 74-8). Amostras de biópsia dos linfonodos, cérebro, miocárdio ou de outros tecidos sob suspeita, como de fluidos corporais, incluindo líquido cefalorraquidiano (LCR), líquido amniótico ou lavado broncoalveolar, podem ser examinadas diretamente para a pesquisa dos organismos. Novas colorações de fluorescência baseadas em anticorpos monoclonais podem facilitar a detecção direta de *T. gondii* em tecidos. Métodos de cultura de *T. gondii* são utilizados amplamente para fins de experimentação e em geral não estão disponíveis em laboratórios clínicos. Entre os métodos disponíveis estão a inoculação de material potencialmente infectado no peritônio de camundongos ou em cultura de tecido. Avanços no desenvolvimento de métodos de detecção baseados na PCR são promissores e podem possibilitar melhoras de rapidez e sensibilidade para detecção dos organismos no sangue, no LCR, no líquido amniótico e em outras amostras clínicas.

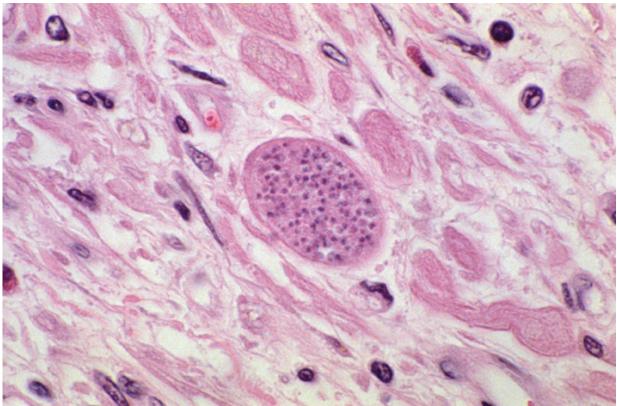


FIGURA 74-8 Cisto de *Toxoplasma gondii* no tecido. Centenas de organismos podem estar presentes no cisto, que pode se tornar ativo e desencadear doença se houver redução da imunidade do hospedeiro (p.ex., imunossupressão em pacientes transplantados e em doenças como síndrome da imunodeficiência adquirida).

Tratamento, Prevenção e Controle

A terapia para toxoplasmose depende da natureza do processo infeccioso e da imunocompetência do hospedeiro. Em hospedeiros normais, a maioria das infecções do tipo mononucleose se resolve espontaneamente e não requer terapia específica. Ao contrário, em pessoas imunocomprometidas, a infecção disseminada ou do SNC deve ser tratada. Antes da associação entre *T. gondii* e infecção por HIV, pacientes com comprometimento imunológico apresentando toxoplasmose eram tratados durante 4 a 6 semanas. No cenário da infecção por HIV, a descontinuação da terapia após 4 a 6 semanas se associa a uma taxa de recaída de 25%. Hoje em dia, esses pacientes estão sendo tratados com regime de uma dose inicial elevada de pirimetamina com sulfadiazina e doses menores de ambos os fármacos para continuação do tratamento por tempo indefinido. Apesar de essa combinação de fármacos ser o regime de escolha, o grau de toxicidade (erupções e supressão da medula óssea) pode gerar a necessidade de modificações com agentes alternativos. A melhor alternativa estudada é a de clindamicina com pirimetamina. Atovaquona e azitromicina (cada uma de forma isolada ou associada à pirimetamina) também possuem alguma atividade, embora a eficácia e segurança em comparação à clindamicina-pirimetamina ainda precisem ser avaliadas. A combinação de trimetoprim-sulfametoxazol é outra alternativa à pirimetamina-sulfadiazina para tratamento de toxoplasmose disseminada ou do SNC. O uso de corticosteroides é indicado como parte da terapia para edema cerebral e para infecções oculares que envolvem ou prejudicam a mácula.

Infecções que ocorrem no primeiro trimestre de gravidez são difíceis de tratar devido à teratogenicidade da pirimetamina demonstrada em animais de laboratório. Tanto a clindamicina quanto a espiramicina têm sido substituídas com aparente sucesso. A espiramicina não parece ser efetiva no tratamento da toxoplasmose em pacientes imunocomprometidos.

À medida que são identificados mais pacientes imunocomprometidos correndo risco de infecção disseminada, maior ênfase é dada para medidas preventivas e profiláticas específicas. Atualmente, está sendo realizada uma triagem de rotina dos pacientes antes do transplante de órgãos e precocemente durante o curso de uma infecção por HIV. Indivíduos com sorologia positiva apresentam risco muito maior de desenvolverem a doença e, na época atual, são considerados para profilaxia. A combinação trimetoprim-sulfametoxazol, que também é utilizada na profilaxia da infecção por *Pneumocystis jirovecii*, também parece ser efetiva na prevenção de infecções por *T. gondii*. Medidas preventivas adicionais para gestantes e hospedeiros imunocomprometidos devem incluir evitar o consumo e o manuseio de carne crua ou malcozida e evitar a exposição às fezes de gatos. Como no caso de outros protozoários, a disponibilidade de terapia antirretroviral tem levado a uma maior redução da toxoplasmose associada à AIDS. Em particular, casos de encefalite por *Toxoplasma* têm sido grandemente reduzidos e até têm sido muito raros em regiões com acesso à terapia antirretroviral.

Sarcocystis lindemanni

Sarcocystis lindemanni é um coccídio típico muito próximo das formas intestinais de Sarcocystis suihominis, Sarcocystis bovihominis e C. belli, e do parasita do sangue e dos tecidos, T. gondii. S. lindemanni ocorre no mundo inteiro em vários animais, sobretudo carneiro, gado e suínos. O ser humano pode ser infectado acidentalmente apenas como consequência da ingestão da carne desses animais. A maioria das infecções é assintomática, porém ocasionalmente uma infecção pode causar miosite, inchaço muscular, dispneia e eosinofilia. A infecção do miocárdio já foi observada, apesar de ser rara. Não existe tratamento específico para a infecção muscular.

Amebas de Vida Livre

Naegleria spp., Acanthamoeba spp., Balamuthia spp., Sappinia pedata, Paravahlkampfia francinae, além de outras amebas de vida livre, são encontradas no solo e em lagoas, riachos e outros ambientes aquáticos contaminados. A maioria das infecções humanas com essas amebas é adquirida durante os meses quentes de verão por pessoas que se expõem a tais parasitas enquanto nadam em águas contaminadas. A inalação dos cistos presentes na poeira pode ser responsável por algumas infecções, enquanto as infecções oculares com Acanthamoeba spp. se associam à contaminação de lentes de contato com soluções de limpeza não estéreis.

Síndromes Clínicas

Os organismos de *Naegleria, Acanthamoeba, Balamuthia, Sappinia* e *Paravahlkampfia* são patógenos oportunistas. Embora a colonização das vias nasais geralmente seja assintomática, essas amebas podem invadir a mucosa e atingir o cérebro (Caso Clínico 74-3). A meningoencefalite amebiana primária (*primary amebic meningoencephalitis*, PAM) aguda é mais comumente causada por *Naegleria fowleri*. A destruição do tecido cerebral é caracterizada por uma meningoencefalite fulminante e rapidamente fatal. Os sintomas incluem uma intensa dor de cabeça frontal, dor de garganta, febre, entupimento nasal com alteração do paladar e do olfato, rigidez do pescoço e sinal de Kernig. O LCR é purulento e pode conter muitos eritrócitos e amebas móveis. Clinicamente, o curso da doença é rápido e quase sempre o paciente morre em 4 a 5 dias. Achados póstumos mostraram a presença de trofozoítos de *Naegleria fowleri* no cérebro, sem evidências de cistos (Fig. 74-9). Ainda que todos os casos registrados antes de 1970 tenham sido fatais, nos dias de hoje existem poucos registros de casos de sobrevivência nos quais a doença foi rapidamente diagnosticada e tratada.



Caso Clínico 74-3 Encefalite Amebiana

Rahimian e Kleinman (Infect Med 22:382-385, 2005) descreveram o caso de um homem de 43 anos, natural da República Dominicana, que procurou o hospital após um episódio de epilepsia. Resultados de um exame de tomografia computadorizada (TC) sem contraste foram normais. O exame neurológico foi inconclusivo e o paciente recebeu alta. Cerca de 2 semanas depois, ele foi novamente atendido no hospital devido a uma nova paralisia facial esquerda. Um exame de TC sem contraste demonstrou uma nova aparência com espessamento e hipodensidade na massa cinzenta frontal direita. O paciente desenvolveu fraqueza progressiva e generalizada, concomitante com paralisia da extremidade superior esquerda. Um exame repetido de TC sem contraste revelou um aumento do tamanho da área hipodensa frontal direita, com edema vasogênico e uma nova lesão hipodensa parietal esquerda. Além disso, também se desenvolveram disartria e cefaleia occipital bilateral. O paciente era um trabalhador da construção civil que negou uso de drogas de abuso injetáveis, recentes tratamentos dentários e fatores de risco para infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Seu histórico de viagem foi significativo somente para uma ida à República Dominicana 2 anos antes. No exame clínico, foram consideradas importantes a disartria, a paralisia facial esquerda e a paralisia da extremidade superior esquerda. Uma punção lombar revelou uma elevada contagem de leucócitos, uma taxa de proteína no líquido cefalorraquidiano de 50 mg/dl e uma glicorraquia de 145 mg/dl (a glicemia foi 327 mg/dl). A coloração de Gram do líquido cefalorraquidiano foi negativa. Um exame de imagem por ressonância magnética da cabeça demonstrou duas lesões grandes em forma de anel com possível necrose central. Resultados do teste HIV foram negativos. Uma biópsia do cérebro revelou infiltração linfocítica, predominantemente nas áreas perivasculares. Um exame acurado revelou trofozoítos e cistos amebianos consistentes com um diagnóstico de encefalite amebiana. Resultados de uma reação em cadeia da polimerase (PCR) foram consistentes com infecção por Balamuthia mandrillaris. A terapia com pentamidina foi iniciada, porém o paciente faleceu 3 dias depois.

Encefalite por *Balamuthia* tem sido descrita em ambos pacientes, imunossuprimidos e imunocompetentes. Muitos pacientes infectados não apresentam história de natação ou exposição à água contaminada. Acredita-se que a porta de entrada seja o trato respiratório ou a pele ulcerada, com disseminação ao cérebro. A maioria dos casos de encefalite amebiana é diagnosticada *postmortem*. Recentemente, a PCR específica para *Balamuthia* tem sido usada para o diagnóstico, como realizado neste caso. A maioria dos pacientes vão a óbito dentro de semanas após o surgimento dos sintomas neurológicos, mesmo sob tratamento com pentamidina.

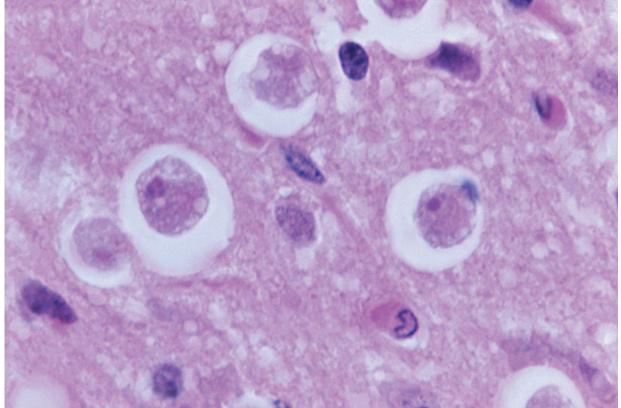


FIGURA 74-9 Numerosos trofozoítos de *Naegleria* no tecido cerebral de um paciente com meningoencefalite amebiana. (De CDC Public Health Image Library.)

Outras pequenas amebas de vida livre podem raras vezes causar encefalite em humanos. Sappinia diploidea é uma ameba de vida livre que se localiza em solo contaminado com fezes de alces e búfalos. S. diploidea foi identificada em uma lesão cerebral retirada de um homem imunocompetente, de 38 anos, que apresentava cefaleia bifrontal, visão turva e perda de consciência após uma infecção de um seio da face. Recentemente, uma nova espécie de ameba de vida livre do gênero Paravahlkampfia, P. francinae, foi isolada a partir do LCR de um paciente com cefaleia, dor de garganta e vômitos, típicos de PAM. Ele recuperou no espaço de poucos dias, o que sugere que alguns relatos anteriores de PAM não fatais podem ter sido causados por esse organismo.

Contrastando com *Naegleria*, tanto *Acanthamoeba* quanto *Balamuthia* produzem uma encefalite amebiana granulomatosa e abscessos únicos ou múltiplos no cérebro, primariamente em indivíduos imunocomprometidos. O curso da doença é mais lento, com um período de incubação de pelo menos 10 dias. A doença resultante é uma encefalite crônica granulomatosa com edema no tecido cerebral.

Também pode ocorrer uma infecção dos olhos e da pele causada por *Acanthamoeba*. Geralmente, a ceratite está associada a um trauma ocular que ocorreu antes do contato com o solo, poeira ou água contaminada. O uso de lentes de contato lavadas de modo inadequado também está associado a essa doença. A invasão das *Acanthamoeba* spp. provoca ulceração da córnea e uma forte dor ocular. Casos de aparente infecção cutânea e subcutânea disseminada por *Acanthamoeba* e *Balamuthia* foram há pouco tempo demonstrados em pacientes aidéticos e receptores de transplante de órgãos sólidos. Essas infecções incluem múltiplos nódulos em tecidos moles cujas biópsias mostram a presença de amebas. Também pode haver envolvimento do SNC ou de tecidos profundos nessa forma de infecção.

Diagnóstico Laboratorial

Para o diagnóstico de infecções causadas por amebas de vida livre, deve ser realizada a coleta de secreção nasal, LCR e (em caso de infecção dos olhos) raspados da córnea. As amostras devem ser examinadas usando-se uma preparação fresca em salina e esfregaços corados com iodo. Colorações de Giemsa, Gram ou coloração fluorescente pelo calco-flúor branco também podem ser usadas. É difícil diferenciar as espécies de *Naegleria* e *Acanthamoeba*, de modo que apenas microscopistas experientes podem fazê-lo. Contudo, a observação de uma ameba em um tecido normalmente estéril é diagnóstica (Fig. 74-9). Na infecção por *Naegleria*, só os **trofozoítos ameboides** são encontrados nos tecidos, enquanto na infecção por *Acanthamoeba* e *Balamuthia* ambos, trofozoítos e cistos, podem ser encontrados nos tecidos. As amostras clínicas podem ser cultivadas em placas de ágar semeadas com bacilos entéricos Gram-negativos. As amebas presentes na amostra usam as bactérias como fonte nutricional e podem ser detectadas em 1 a 2 dias pela presença de trilhas que se formam na superfície do ágar quando as amebas se movem. *Balamuthia* não cresce em placas de ágar utilizadas para *Naegleria* e *Acanthamoeba*, mas tem sido recuperada de culturas de tecido feitas com linhagens celulares de mamíferos. A maioria dos casos de infecção por *Balamuthia* é diagnosticada por imunofluorescência. PCR também tem sido empregada no diagnóstico de infecções com as três amebas de vida livre.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento de infecções causadas por amebas de vida livre é bastante ineficiente. A meningoencefalite amebiana causada por *Naegleria*, *Acanthamoeba* e *Balamuthia* não responde à maioria dos agentes antimicrobianos. O tratamento de escolha para as infecções com *Naegleria* é a anfotericina B combinada com miconazol e rifampicina. As infecções por *Acanthamoeba* podem ser tratadas com pentamidina, cetoconazol e flucitosina, enquanto as infecções por *Balamuthia* têm sido tratadas com claritromicina, fluconazol, sulfadiazina, pentamidina e flucitosina. A ceratite amebiana e as infecções cutâneas amebianas podem ser responsivas ao miconazol, gluconato de clorexidina ou ao isotionato de propamidina tópicos. O tratamento da ceratite amebiana pode requerer transplantes de córnea repetidos ou (raramente) a enucleação do olho. A ampla distribuição desses organismos em águas frescas e salobras dificulta a prevenção e o controle da infecção. Sugere-se manter as fontes de infecção fora dos limites das áreas de banho, mergulho e prática de esportes aquáticos, embora isso geralmente seja difícil de ser cumprido. Piscinas com rachaduras nas paredes, permitindo a infiltração do solo, devem ser reparadas para evitar a criação de uma fonte de infecção.

Leishmania

Leishmania são parasitas intracelulares obrigatórios que são transmitidos de um animal para o homem, ou de um homem a outro pela picada de uma fêmea do mosquito-palha. Dependendo da área geográfica, muitas espécies diferentes podem infectar o homem, produzindo uma variedade de doenças que incluem desde formas cutâneas, cutâneas difusas, e mucocutâneas a formas viscerais (Tabela 74-2). Novas espécies de *Leishmania* estão sendo frequentemente detectadas. Enquanto a literatura antiga focava três espécies principais, *L. donovani* (leishmaniose visceral), *L. tropica* (leishmaniose cutânea) e *L. braziliensis* (leishmaniose cutânea), a atual taxonomia da leishmaniose está em estado de fluxo. Na atualidade, a diferenciação das espécies se baseia mais em técnicas moleculares que na distribuição geográfica e na apresentação clínica.



Leishmanioses em Humanos

Parasita	Doença	Distribuição Geográfica	
Leishmania donovani	Leishmaniose visceral Leishmaniose mucocutânea Leishmaniose cutânea Leishmaniose dérmica	África, Ásia	
L. infantum (L. chagasi)	Leishmaniose visceral	África, Europa, área do Mediterrâneo, Sudoeste Asiático, América Central e América do Sul	
L. tropica	Leishmaniose cutânea Leishmaniose visceral (rara)	Afeganistão, Índia, Turquia, antiga União Soviética, Oriente Médio, África	
L. major	Leishmaniose cutânea	Oriente Médio, Afeganistão, África, antiga União Soviética	
L. aethiopica	Leishmaniose cutânea Leishmaniose cutânea difusa Leishmaniose mucocutânea	Etiópia, Quênia, Iêmen, antiga União Soviética	
L. mexicana	Leishmaniose cutânea Leishmaniose cutânea difusa	Texas, Belize, Guatemala, México	
L. braziliensis	Leishmaniose cutânea Leishmaniose mucocutânea	América Central e América do Sul	
L. peruviana	Leishmaniose cutânea	Panamá, Colômbia, Costa Rica	
L. garnhami	Leishmaniose cutânea	Venezuela	
L. colombiensis	Leishmaniose cutânea	Colômbia, Panamá	
L. venezuelensis	Leishmaniose cutânea	Venezuela	
L. lainsoni	Leishmaniose cutânea	Brasil	
L. amazonensis	Leishmaniose cutânea Leishmaniose cutânea difusa	Brasil, Venezuela	
L. naiffi	Leishmaniose cutânea	Brasil, Ilhas Caribenhas	
L. pifanoi	Leishmaniose cutânea Leishmaniose cutânea difusa	Brasil, Venezuela	

Dados de Barratt JL, Harkness J, Marriott D, et al: Importance of nonenteric protozoan infections in immunocompromised people, Clin Microbiol Rev 23:795–836, 2010.

Fisiologia e Estrutura

Os ciclos de vida das leishmânias são muito semelhantes (Fig. 74-10), enquanto as infecções associadas diferem quanto à epidemiologia, aos tecidos afetados e às manifestações clínicas. O estágio de **promastigota** (forma alongada, delgada, com um flagelo livre) está presente na saliva de mosquitos-palha infectados. A infecção humana tem início com a picada de um mosquito-palha infectado, que injeta os promastigotas na pele, onde perdem o flagelo e entram no estágio de **amastigota**, invadindo as células reticuloendoteliais. A mudança de promastigota para amastigota ajuda a escapar da resposta imune do hospedeiro. Alterações nas moléculas de superfície dos organismos desempenham um papel importante na fixação ao macrófago e na evasão da resposta imunológica, inclusive na manipulação das vias de sinalização do macrófago. A reprodução ocorre no estágio amastigota e, conforme as células se rompem, tecidos específicos são destruídos (p.ex., tecidos cutâneos, órgãos viscerais como fígado e baço). O estágio amastigota (Fig. 74-11) é diagnóstico da leishmaniose, além de servir como o estágio infeccioso para as moscas da areia. Neste, as formas amastigotas ingeridas se transformam em promastigotas, que se multiplicam por fissão binária no intestino médio do mosquito. Após o desenvolvimento, as formas desse estágio migram para a probóscide do mosquito, de onde novas infecções humanas podem ser produzidas durante a alimentação do mosquito. Os ciclos de vida dos organismos de *Leishmania* são semelhantes

nas leishmanioses cutânea, mucocutânea e visceral, exceto que as células reticuloendoteliais infectadas são encontradas distribuídas no corpo do hospedeiro na leishmaniose visceral.

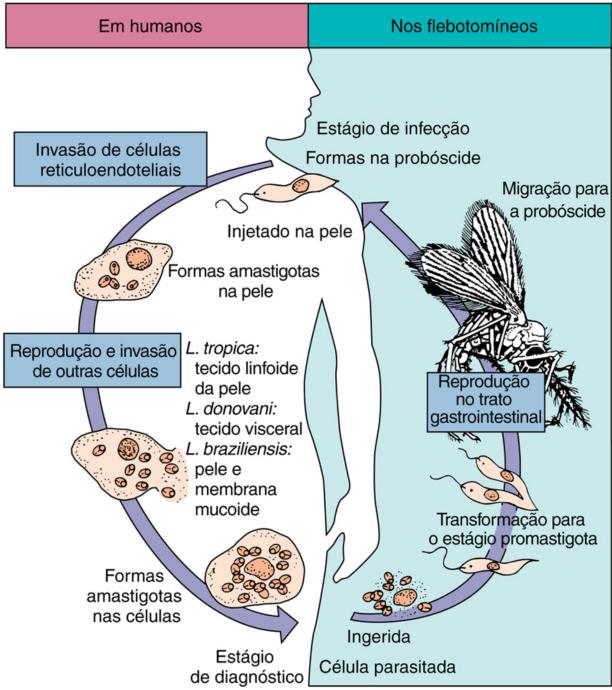


FIGURA 74-10 Ciclo biológico de espécies de Leishmania.

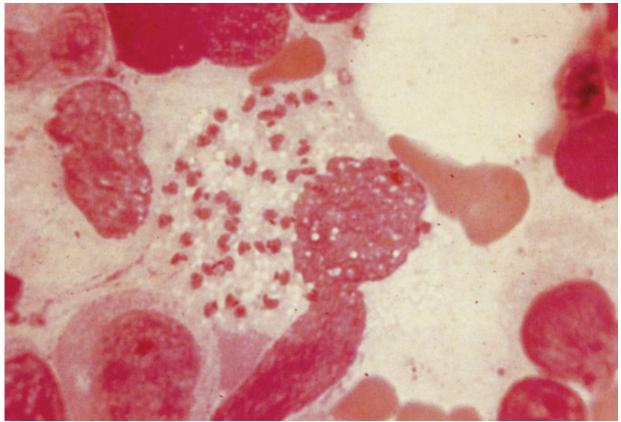


FIGURA 74-11 Amastigotas corados pelo Giemsa (corpos de Leishman-Donovan) de *Leishmania* donovani presentes em uma biópsia do baço. Um pequeno e castanho cinetoplasto pode ser observado próximo ao núcleo esférico em alguns parasitas. (De Connor DH, Schwartz DA: *Pathology of infectious diseases*, vol 2, Stamford, Conn, 1997, Appleton & Lange.)

Epidemiologia

A leishmaniose é uma zoonose transmitida por fêmeas do mosquito-palha, pertencentes aos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*. Os reservatórios naturais incluem roedores, gambás, tamanduás, bicho-preguiça, gatos e cães. Em áreas do mundo onde a leishmaniose é endêmica, a infecção pode ser transmitida através de um ciclo homemvetor-homem. A infecção também pode ser transmitida por contato direto com uma lesão infecciosa ou mecanicamente por mosquitos de estábulo e por mosquitos de cães.

Na maioria das vezes, a leishmaniose mucocutânea ocorre na Bolívia, Brasil e Peru, enquanto a forma cutânea é muito mais disseminada no Oriente Médio (Afeganistão, Argélia, Irã, Iraque, Arábia Saudita, Síria) e em áreas focais na América do Sul (Brasil, Peru). A leishmaniose cutânea tem sido diagnosticada entre militares dos Estados Unidos posicionados no Afeganistão, Iraque e Kuwait.

A taxa de ocorrência da **leishmaniose visceral (calazar, febre dum-dum)** é de 500.000 casos novos ao ano, 90% dos quais em Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal e Sudão. Essa infecção pode existir como doença endêmica, epidêmica ou esporádica e é uma zoonose, exceto na Índia, onde o calazar ("febre negra" em indiano) é uma antroponose (homem-vetor-homem). Indivíduos com leishmaniose dérmica pós-calazar podem constituir reservatórios muito importantes na manutenção da infecção entre a população, devido à elevada concentração de organismos na pele. Em contraste com as leishmanioses cutânea e mucocutânea, para as quais um grande número de espécies de *Leishmania* foi implicado, apenas *L. donovani* e *L. infantum* (*L. chagasi*) comumente causam leishmaniose visceral. *L. infantum* está presente nos países ao longo da bacia do Mediterrâneo (Europa, Oriente Próximo, África) e é encontrada em partes da China, América do Sul e na antiga União Soviética, enquanto *L. donovani* se concentra na África e Ásia. Embora *L. tropica* na maioria das vezes cause leishmaniose cutânea, cepas viscerotrópicas raras foram registradas no Oriente Médio, África e Índia.

Síndromes Clínicas

Dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida, a infecção pode resultar em uma doença cutânea, cutânea difusa, mucocutânea ou visceral. Com a disseminação pandêmica do HIV, há um reconhecimento crescente da leishmaniose visceral relacionada com o HIV causada por *L. donovani* no sul da Ásia e na África, e por *L. infantum* (*L. chagasi*) na América do Sul. Nesses pacientes coinfectados, a leishmaniose se manifestará como uma infecção oportunista, com detecção de parasitas em locais atípicos e uma elevada mortalidade associada.

O primeiro sinal de **leishmaniose cutânea**, uma pápula vermelha, surge no local da picada do mosquito entre 2 semanas e 2 meses após a exposição inicial. A lesão se torna irritada, intensamente pruriginosa, e começa a aumentar e ulcerar. A úlcera se torna gradualmente dura e encrostada e exsuda um material fino e seroso. Nesse estágio, uma infecção bacteriana

secundária pode complicar a doença. A lesão pode se curar sem tratamento em uma questão de meses, mas em geral deixa uma cicatriz desfigurante. A espécie comumente associada à leishmaniose cutânea, *L. tropica*, também pode existir sob a forma viscerotrópica. Um tipo de leishmaniose cutânea nodular disseminada foi registrado na Etiópia, causado provavelmente por uma alergia aos antígenos de *L. aethiopica*.

A leishmaniose mucocutânea é produzida pelo complexo *L. braziliensis* na maioria das vezes. No caso de *L. braziliensis*, o período de incubação e o aparecimento de úlceras cutâneas primárias são semelhantes aos das outras formas de leishmaniose cutânea. A diferença essencial na doença clínica é o envolvimento e a destruição de membranas mucosas e de estruturas teciduais relacionadas. Lesões primárias não relacionadas podem se desenvolver na forma mucocutânea em até 80% dos casos. A disseminação para as mucosas nasal e oral pode se tornar aparente concomitantemente ao surgimento da lesão primária ou muitos anos após a cura dessa lesão. As lesões mucosas não saram de maneira espontânea, sendo comum ocorrerem infecções bacterianas secundárias, causando mutilação facial grave e desfigurante e ocasionalmente morte.

A forma visceral de leishmaniose pode se apresentar como uma doença fulminante, rapidamente fatal, como um processo mais crônico e debilitante ou como uma infecção autolimitada e assintomática. O período de incubação pode ser de várias semanas a 1 ano, com surgimento gradativo de febre, diarreia e anemia. É comum o aparecimento de calafrios e sudorese, sintomas parecidos com os da malária, no início da infecção. Conforme os organismos proliferam e invadem as células do sistema reticuloendotelial, ocorre um aumento marcante do tamanho do fígado e do baço, perda de peso e emagrecimento. Também pode haver lesão renal conforme as células dos glomérulos são invadidas. Com a persistência da doença, surgem áreas granulomatosas e hiperpigmentadas na pele denominadas leishmaniose dérmica pós-calazar. Nessa condição, as lesões dérmicas maculares ou hipopigmentadas estão associadas à presença de poucos parasitas, enquanto as lesões eritematosas e nodulares se associam à presença de muitos parasitas.

Diagnóstico Laboratorial

Embora em áreas endêmicas o diagnóstico de leishmaniose visceral, cutânea ou mucocutânea possa ser realizado com base clínica em áreas endêmicas, o diagnóstico definitivo depende da detecção tanto de amastigotas em amostras clínicas como de promastigotas em cultura. A demonstração de amastigotas em esfregaços adequadamente corados obtidos a partir de esfregaços por aposição ou amostras de biópsias de úlceras e culturas de tecido ulceroso determina o diagnóstico das leishmanioses cutânea e mucocutânea. Para o diagnóstico da leishmaniose visceral, as amostras são aspiradas de punção esplênica e de linfonodos, biópsia de fígado, aspirados do esterno e da crista ilíaca da medula óssea e preparações de plasma coagulado de sangue venoso. Essas amostras podem ser examinadas microscopicamente, cultivadas e submetidas a métodos de detecção molecular. As técnicas moleculares para detecção de DNA ou ácido ribonucleico (RNA) têm sido utilizadas para o diagnóstico, prognóstico e identificação de espécies, sendo mais sensíveis que a microscopia ou a cultura, principalmente para a detecção da leishmaniose mucocutânea. Apesar de existirem testes sorológicos disponíveis, não são especialmente úteis para o diagnóstico de leishmaniose mucocutânea ou visceral. A detecção de antígenos urinários tem sido utilizada para o diagnóstico de leishmaniose visceral.

Tratamento, Prevenção e Controle

No momento, o fármaco de escolha para todas as formas de leishmaniose é o composto antimonial pentavalente estibogluconato de sódio (Pentostam®). Nos últimos anos, o uso ubíquo desse agente tem sido ameaçado pelo desenvolvimento de resistência ao fármaco. Além disso, esse tratamento pode ser complicado por uma variação da suscetibilidade das *Leishmania* spp. aos fármacos, pela variação farmacocinética e pela variação na interação entre o fármaco e o sistema imunológico do hospedeiro. A toxicidade dos antimoniais também é considerável, e como resultado, várias abordagens alternativas para o tratamento da leishmaniose têm sido desenvolvidas.

A terapia-padrão para o tratamento da leishmaniose cutânea consiste em injeções de compostos antimoniais diretamente na lesão ou por via parenteral. Há pouco tempo, o fluconazol e a miltefosina se mostraram eficazes. Entre outros agentes estão a anfotericina B, a pentamidina e várias formulações de paromomicina. Entre as alternativas ao tratamento quimioterápico da leishmaniose cutânea estão a crioterapia, o aquecimento e a excisão cirúrgica.

O estibogluconato permanece como fármaco de escolha para o tratamento da leishmaniose mucocutânea, tendo como alternativa a anfotericina B. De forma notável, pacientes clinicamente curados da infecção por *L. braziliensis*, que se destaca por sua cronicidade, latência e metástase com envolvimento de membranas mucosas, apresentaram resultado positivo de PCR até 11 anos após a terapia. É necessária a realização de acompanhamento com esfregaços, culturas e/ou PCR para garantir que o tratamento tenha sido eficiente.

O papel do estibogluconato no tratamento da leishmaniose visceral tem sofrido alterações ultimamente. Embora em quase todo o mundo mais de 95% dos pacientes com leishmaniose visceral sem tratamento prévio tenham respondido aos antimoniais pentavalentes, registrou-se uma ampla falha primária desses agentes na região de Bihar, norte da Índia. A incidência da resposta primária foi de apenas 54%, e 8% dos que responderam de início ao tratamento tiveram recaída. Essa resistência emergente tem sido atribuída ao uso inadequado e disseminado do fármaco. Felizmente, em anos recentes, foram implementadas quatro terapias novas para a leishmaniose visceral: formulações lipossômicas de anfotericina B, miltefosina oral, uma formulação parenteral de paromomicina, e sitamaquina oral (uma 8-aminoquinolina). Miltefosina tem apresentado eficácia (taxa de cura > 95%) e tolerância excelentes. Infelizmente, os dados preliminares da Índia sugerem um

aumento na taxa de recaída em pacientes tratados com miltefosina, indicando que pode haver o desenvolvimento de resistência ao fármaco e que devem ser desenvolvidas estratégias para sua prevenção.

A prevenção das várias formas de leishmaniose envolve o tratamento imediato das infecções humanas e o controle dos hospedeiros-reservatório, juntamente com o controle do inseto vetor. Também é essencial se proteger contra o mosquito-palha por meio do uso de telas e de repelentes. Proteger as florestas e os trabalhadores de construção em áreas endêmicas é mais difícil, já que nesses locais a doença pode ser controlada efetivamente apenas através da vacinação. Esforços para a produção de uma vacina estão em andamento.

Tripanossomos

Trypanosoma, outro hemoflagelado, causa duas formas distintas de doença (Tabela 74-3). Uma delas é chamada de **tripanossomíase africana ou doença do sono**, sendo causada por *Trypanosoma brucei gambiense* e *T. b. rhodesiense*. É transmitida por moscas tsé-tsé. A outra infecção é chamada de **tripanossomíase americana**, **ou doença de Chagas**, sendo causada pelo *Trypanosoma cruzi*. É transmitida por insetos hemípteros (triatomídeos, reduvídeos, [*barbeiros*]; Caso Clínico 74-4).



Tabela 74-3

Espécies de Trypanosoma Responsáveis por Doença Humana

Parasita	Vetor	Doença
Trypanosoma brucei gambiense e T. b. rhodesiense	Mosca tsé-tsé	Tripanossomíase africana (doença do sono)
Trypanosoma cruzi	Reduvídeos	Tripanossomíase americana (doença de Chagas)



Caso Clínico 74-4 Tripanossomíase

Herwaldt et al. (J Infect Dis 181:395-399, 2000) descrevem um caso no qual a mãe de um garoto de 18 meses no Tennessee encontrou um inseto triatomídeo no berço de seu filho, que ela guardou por se parecer com um inseto mostrado em um programa de televisão sobre insetos que se alimentam em mamíferos. Um entomologista identificou o inseto como Triatoma sanguisuga, um vetor da doença de Chagas. O inseto foi encontrado ingurgitado de sangue e infectado com Trypanosoma cruzi. A criança tinha apresentado febre intermitente nas 2 ou 3 semanas anteriores, mas estava saudável exceto por apresentar um edema de faringe e várias picadas de inseto de tipo desconhecido em suas pernas. Amostras de sangue total obtidas da criança deram resultado negativo ao exame da camada leucoplaquetária e de hemocultura, porém foram positivas para T. cruzi nas análises de PCR e de hibridização do DNA, sugerindo que a criança apresentava um baixo nível de parasitemia. Amostras obtidas após o tratamento com benznidazol foram negativas. Ele não desenvolveu anticorpos anti-T. cruzi; 19 parentes e vizinhos também negativaram. Dois dos três guaxinins capturados nas proximidades apresentaram hemoculturas positivas para T. cruzi. O caso da criança infectada por T. cruzi — o quinto caso autóctone registrado nos Estados Unidos — teria sido perdido se a mãe não tivesse sido atenta e se as sensíveis técnicas moleculares não estivessem disponíveis. Uma vez que triatomídeos infectados e hospedeiros mamíferos existem no sul dos Estados Unidos, não é surpreendente que pessoas possam ser infectadas com T. cruzi. Além disso, dadas as manifestações clínicas não específicas dessa infecção, é provável que outros casos tenham passado despercebidos.

Trypanosoma brucei gambiense

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida das formas africanas da tripanossomíase é ilustrado na Figura 74-12. O estágio infectante desses organismos é o tripomastigota (Fig. 74-13), que é encontrado nas glândulas salivares das moscas tsé-tsé transmissoras. Nesse estágio, o organismo possui um flagelo livre e uma membrana ondulante que percorre toda a extensão de seu corpo. Os tripomastigotas penetram na lesão criada pela picada da mosca e seguem para a circulação sanguínea e linfática, eventualmente invadindo o SNC. A reprodução das formas tripomastigotas no sangue, linfa e líquido cefalorraquidiano ocorre por fissão binária ou longitudinal. No sangue, esses tripomastigotas são infectantes para as moscas tsé-tsé através da picada e nelas se reproduzem novamente no intestino médio. Em seguida, os organismos migram para as glândulas salivares, onde uma forma epimastigota (que possui um flagelo livre e apenas uma membrana ondulante parcial) continua a reprodução até o estágio infectante de tripomastigota. As moscas tsé-tsé se tornam infectantes 4 a 6 semanas após terem se alimentado do sangue de um paciente doente.

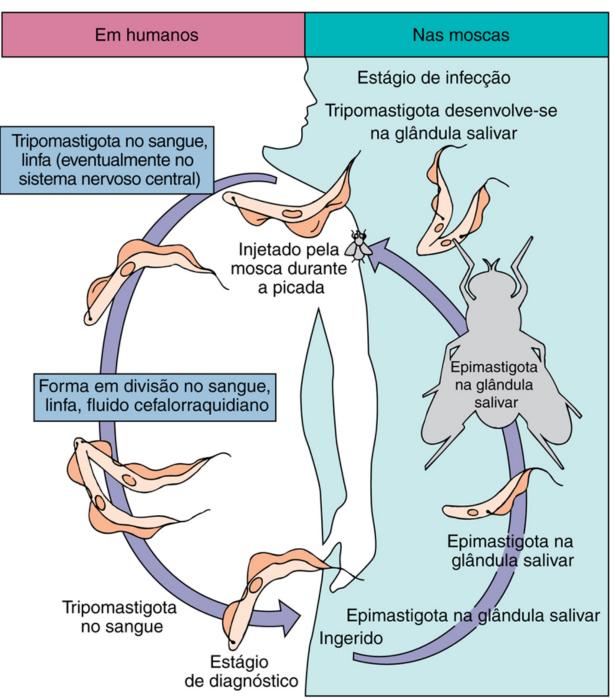


FIGURA 74-12 Ciclo biológico de *Trypanosoma brucei*.

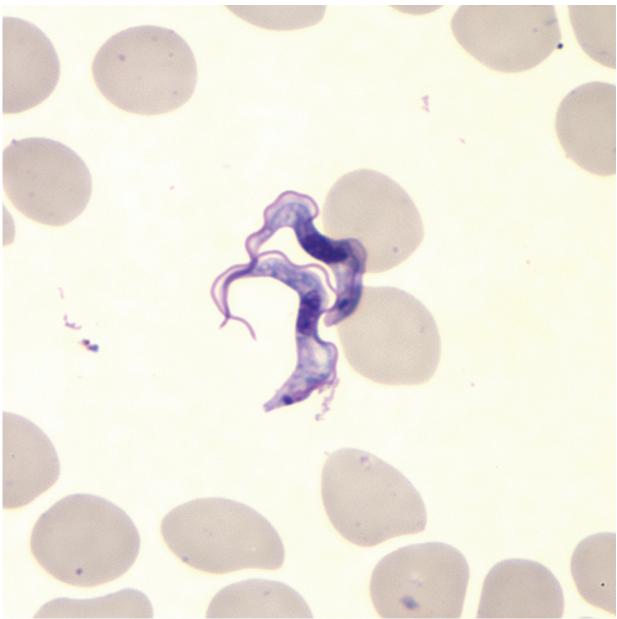


FIGURA 74-13 Estágio tripomastigota de *Trypanosoma brucei gambiense* em esfregaço sanguíneo.(De CDC Public Health Image Library.)

Epidemiologia

T. b. gambiense ocorre apenas nas regiões tropicais oeste e central da África, de forma correlacionada com a abrangência do vetor, a mosca tsé-tsé. As moscas tsé-tsé transmissoras de *T. b. gambiense* têm preferência por margens de riachos à sombra para reprodução e pela proximidade com residências humanas. As pessoas que trabalham nessas áreas correm grande risco de infecção. A existência de um animal-reservatório não foi comprovada, embora várias espécies de animais tenham sido infectadas experimentalmente.

Síndromes Clínicas

O período de incubação da **doença do sono gambiense** varia de poucos dias a semanas. *T. b. gambiense* causa uma doença crônica que muitas vezes leva ao óbito, com envolvimento do SNC depois de anos de duração. Um dos primeiros sintomas da doença é o aparecimento ocasional de uma **úlcera** no local da picada da mosca. Conforme os organismos continuam se reproduzindo, há invasão dos linfonodos provocando febre, mialgia, artralgia e aumento dos linfonodos. O inchaço dos linfonodos posteriores cervicais é característico da doença gambiense, sendo chamado de **sinal de Winterbottom**. Pacientes nessa fase aguda frequentemente apresentam hiperatividade.

A doença crônica progride para o envolvimento do SNC, causando letargia, tremores, meningoencefalite, retardo mental e deterioração geral. Nos estágios finais da doença crônica, ocorrem convulsões, hemiplegia e incontinência, e se torna difícil acordar o paciente ou fazê-lo responder a estímulos, ocorrendo eventualmente uma progressão para o estado comatoso. A morte resulta do dano ao SNC e da ocorrência de outras infecções, como malária ou pneumonia.

Diagnóstico Laboratorial

Os organismos podem ser demonstrados em esfregaços sanguíneos delgados e espessos, em preparações de sangue concentradas e tratadas com anticoagulante e em aspirados de linfonodos e de líquido cefalorraquidiano concentrado (Fig. 74-13). Métodos de concentração de parasitas no sangue podem ser úteis. As abordagens utilizadas são a centrifugação de amostras heparinizadas e a cromatografia de troca iônica. Os níveis de parasitemia são muito variáveis, necessitando de várias tentativas de visualização dos organismos ao longo de alguns dias. As preparações devem ser fixadas e coradas imediatamente para evitar a desintegração dos tripomastigotas. Testes sorológicos também constituem técnicas diagnósticas úteis. Os métodos de imunofluorescência, ELISA, precipitina e aglutinação têm sido utilizados. A maioria dos reagentes não está comercialmente disponível. Os laboratórios de referência têm utilizado PCR para detectar infecções e para diferenciar as espécies (*T. b. gambiense versus T.b. rhodesiense*), porém tal método não é utilizado rotineiramente em campo.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha para o tratamento dos estágios agudos sanguíneo e linfático da doença é a suramina, com a pentamidina como alternativa. A suramina e a pentamidina não atravessam a barreira hematoencefálica e, por isso, o melarsoprol é o fármaco de escolha quando há suspeita de envolvimento do SNC. A difluorometilornitina (DFMO) é um fármaco citostático com atividade contra os estágios agudo e tardio (SNC) da doença. As medidas de controle mais eficientes incluem uma abordagem integrada para reduzir o reservatório humano da infecção e o uso de armadilhas e inseticidas contra as moscas; entretanto, como os recursos econômicos são limitados, é difícil sustentar programas efetivos.

Trypanosoma brucei rhodesiense

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida de *T.b. rhodesiense* é semelhante ao de *T.b. gambiense* (Fig. 74-12), com ambas as formas de tripomastigota e epimastigota e a transmissão por moscas tsé-tsé.

Epidemiologia

O organismo é encontrado primariamente no leste da África, especialmente em países onde a pecuária está crescendo, em que as moscas tsé-tsé se reproduzem mais no mato que nas margens de riachos. *T. b. rhodesiense* também difere de *T. b. gambiense* com relação aos reservatórios, incluindo animais domésticos hospedeiros (gado e carneiro) e animais selvagens de caça. Esse ciclo de transmissão e vetor torna mais difícil seu controle que o de *T. b. gambiense*.

Síndromes Clínicas

O período de incubação de *T. b. rhodesiense* é menor que o de *T. b. gambiense*. A doença aguda (febre, rigidez e mialgia) ocorre mais depressa e progride para uma enfermidade fulminante e rapidamente fatal. Pessoas infectadas quase sempre morrem em 9 a 12 meses se não forem tratadas.

Esse organismo mais virulento também se desenvolve em números maiores no sangue. Não é comum haver linfadenopatia, e a invasão do SNC ocorre no início da infecção, acompanhada de letargia, anorexia e distúrbio mental. Os estágios crônicos descritos para *T. b. gambiense* não são observados com frequência, pois, além de afetar o SNC rapidamente, o organismo produz lesão renal e miocardite, levando à morte.

Diagnóstico Laboratorial

O exame do sangue e do líquido cefalorraquidiano é conduzido da mesma maneira que para *T. b. gambiense*. Embora existam testes sorológicos disponíveis, a grande variabilidade dos antígenos de superfície dos tripanossomos limita a utilidade diagnóstica dessa abordagem.

Tratamento, Prevenção e Controle

Aplica-se o mesmo protocolo de tratamento utilizado para *T. b. gambiense*, com o tratamento precoce das manifestações neurológicas mais rápidas. São necessárias medidas de prevenção e controle semelhantes: controle da mosca tsé-tsé e uso de roupas protetoras, telas, redes e repelentes de insetos. Além disso, o tratamento precoce é essencial para controlar a transmissão, detectar a infecção e determinar o tratamento dos animais domésticos. O controle da infecção nos animais de caça é difícil, porém a infecção pode ser reduzida se forem tomadas medidas para o controle da população de moscas tsé-tsé, especificamente a erradicação dos locais de reprodução no mato e em pastos.

Trypanosoma cruzi

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida de *T. cruzi* (Fig. 74-14) difere do ciclo de vida de *T. brucei*, com o desenvolvimento de uma forma adicional chamada de **amastigota** (Fig. 74-15). O amastigota é uma forma intracelular aflagelada e sem membrana ondulante. O tripomastigota infectante, que está presente nas fezes de um **inseto reduvídeo** ("barbeiro"), penetra na ferida que se forma com a picada do inseto durante a hematofagia. Os insetos foram chamados de barbeiros porque frequentemente picam as pessoas na região ao redor da boca e em outras partes da face. São notáveis por darem uma picada, se alimentarem de sangue e de humores teciduais, e então defecarem na ferida produzida pela picada. Os organismos presentes nas fezes do

inseto penetram na ferida, sendo esta penetração usualmente auxiliada quando o paciente coça ou esfrega o local que está irritado.

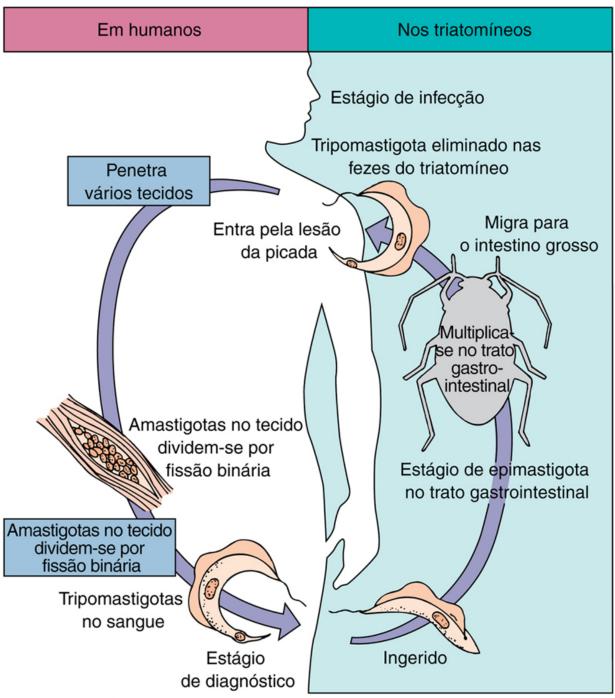


FIGURA 74-14 Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*.

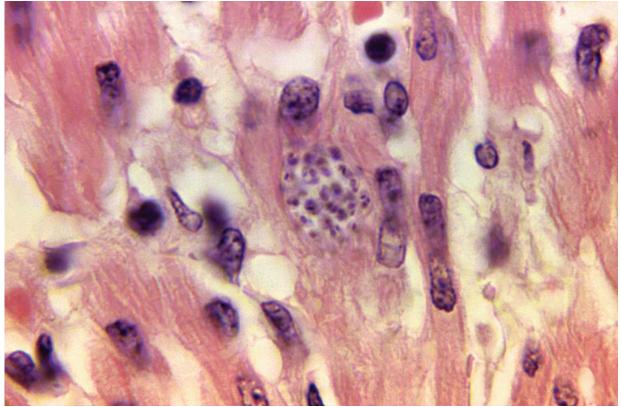


FIGURA 74-15 Estágio amastigota de Trypanosoma cruzi no músculo cardíaco. (De CDC Public Health Image Library.)

Então, os tripomastigotas migram para outros tecidos (p.ex., músculo cardíaco, fígado e cérebro), perdem seu flagelo e a membrana ondulante, e se transformam em formas amastigotas menores, ovais e intracelulares. Esses amastigotas intracelulares se multiplicam por fissão binária e eventualmente destroem as células hospedeiras. Em seguida, são liberados e penetram em um novo tecido hospedeiro como amastigotas intracelulares, ou se transformam em tripomastigotas infectantes para os reduvídeos que se alimentarem nesse paciente. Os tripomastigotas ingeridos se desenvolvem em epimastigotas no intestino médio do inseto e se reproduzem por fissão binária longitudinal. Os organismos migram para o intestino posterior do inseto, desenvolvem-se em tripomastigotas metacíclicos e então deixam o vetor juntamente com as fezes eliminadas após a picada, alimentação e defecação do inseto, dando início a uma nova infecção humana.

Epidemiologia

O *T. cruzi* é amplamente encontrado em insetos reduvídeos e também em um grande espectro de animais-reservatório nas Américas do Norte, Central e do Sul. Na maioria das vezes, a doença humana é encontrada entre crianças na América do Sul e na América Central, onde 16 a 18 milhões de pessoas estão infectadas. Existe uma correlação direta entre animais selvagens infectados atuando como reservatórios e a presença de insetos infectados, cujos ninhos são encontrados em residências humanas. Casos da doença adquirida naturalmente nos Estados Unidos são raros, pois os insetos preferem construir seus ninhos em tocas de animais e também porque as casas não são tão abertas para a construção dos ninhos como na América Central e na América do Sul. A imigração da Doença de Chagas, partindo de áreas onde é endêmica para países onde não é, tem tornado a doença um problema de saúde pública crescente nos últimos anos. Assim, a triagem de doadores de sangue e de órgãos sólidos para doença de Chagas tem se tornado importante. Nos Estados Unidos, a triagem de doadores de sangue através de imunoensaio enzimático tem sido implementada, mas ainda não é obrigatória.

Síndromes Clínicas

A doença de Chagas pode ser assintomática, aguda ou crônica. Um dos primeiros sinais é o desenvolvimento de uma área eritematosa e endurecida, chamada de **chagoma**, no local da picada do inseto. Muitas vezes se segue a isso o aparecimento de uma erupção e de edema ao redor dos olhos e da face (**sinal de Romaña**). A doença é mais grave em crianças com menos de 5 anos e é frequentemente vista como um processo agudo que acomete o SNC. A infecção aguda também é caracterizada por febre, calafrios, mal-estar, mialgia e fadiga. Os parasitas podem estar presentes no sangue durante a fase aguda, entretanto se apresentam escassos em pacientes com mais de 1 ano. O paciente pode morrer poucas semanas após um ataque agudo, pode se recuperar ou pode entrar na fase crônica, na qual os organismos proliferam e invadem o coração, fígado, baço, cérebro e linfonodos.

A doença de Chagas crônica caracteriza-se por hepatosplenomegalia, miocardite e aumento do tamanho do esôfago e do cólon como resultado da destruição de células nervosas (p.ex., plexo de Auerbach) e de outros tecidos que controlam o crescimento desses órgãos.

Megacardia e alterações eletrocardiográficas são comumente observadas na doença crônica. O envolvimento do SNC produz granulomas no cérebro, com formação de cistos e meningoencefalite. A morte resultante da doença de Chagas

crônica é uma consequência da destruição tecidual que ocorre em muitas áreas invadidas pelos organismos, e a morte repentina resulta de um bloqueio cardíaco completo e de dano cerebral.

Diagnóstico Laboratorial

O *T. cruzi* pode ser demonstrado em esfregaços sanguíneos delgados e espessos ou no sangue concentrado e tratado com anticoagulante obtido precocemente no estágio agudo. Conforme a infecção progride, os organismos deixam a corrente sanguínea e se tornam difíceis de encontrar. Uma biópsia dos linfonodos, fígado, baço ou medula óssea pode mostrar os organismos no estágio amastigota. A cultura de sangue ou a inoculação em animais de laboratório pode ser útil quando a parasitemia está baixa. Testes sorológicos também estão disponíveis. Em áreas endêmicas, utiliza-se amplamente o xenodiagnóstico. Técnicas de amplificação gênica, como a PCR, têm sido utilizadas para detectar o organismo na circulação sanguínea. A disponibilidade dessas abordagens não é grande, e não há adaptação para o uso de campo.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da doença de Chagas é limitado pela falta de agentes de confiança. Os fármacos de escolha são benznidazol e nifurtimox. Embora ambos os fármacos tenham alguma atividade contra a fase aguda da doença, apresentam pouco efeito contra a doença de Chagas crônica e provocam graves efeitos colaterais. Agentes alternativos incluem alopurinol. É fundamental educar sobre a doença, a transmissão por meio de insetos e a atuação de animais selvagens como reservatórios. O controle dos triatomíneos, a erradicação de seus ninhos e a construção de casas para prevenir o alojamento dos insetos também são essenciais. O uso de diclorodifeniltricloroetano (DDT) em casas infestadas por insetos tem demonstrado uma queda na transmissão da malária e da doença de Chagas. A triagem do sangue pela utilização de meios sorológicos ou da exclusão de doadores de sangue provenientes de áreas endêmicas previne algumas infecções que poderiam estar associadas à transfusão terapêutica.

O desenvolvimento de uma vacina é possível, uma vez que *T. cruzi* não apresenta a variação antigênica observada nos tripanossomos africanos.

Referências Bibliográficas

Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:334–359.

Baird JK. Resistance to therapies for infection by Plasmodium vivax. Clin Microbiol Rev. 2009;22:508-534.

Barratt JL, Harkness J, Marriott D, et al. Importance of nonenteric protozoan infections in immunocompromised people. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23:795–836.

Bruckner DA, Labarca JA. Leishmania and Trypanosoma. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, et al. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clin Infect Dis*. 2008;46:165–171.

Croft SL, Sundar S, Fairlamb AH. Drug resistance in leishmaniasis. Clin Microbiol Rev. 2006;19:111–126.

Kantele A, Jokiranta TS. Review of cases with the emerging fifth human malaria parasite, *Plasmodium knowlesi*. *Clin Infect Dis*. 2011;52:1356–1362.

Leiby DA. Transfusion-transmitted Babesia spp.: bulls-eye on Babesia microti. Clin Microbiol Rev. 2011;24:14–28.

Lin JT, Juliano JJ, Wongsrichanalai C. Drug-resistant malaria: the era of ACT. Curr Infect Dis Rep. 2010;12:165–173.

Menard D, Barnadas C, Bouchier C, et al. *Plasmodium vivax* clinical malaria is commonly observed in Duffy-negative Malagasy people. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:5967–5971.

Murray CK, Gasser Jr RA, Magill AJ, et al. Update on rapid diagnostic testing for malaria. Clin Microbiol Rev. 2008;21:97–110.

Rogers WO. Plasmodium and Babesia. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Visvesvara GS. Pathogenic and opportunistic free-living amebae. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

CAPÍTULO 75

Nematoides

Um menino de 10 anos foi trazido por seu pai para avaliação de dor abdominal espasmódica, náuseas e diarreia branda que persistia por aproximadamente 2 semanas. No dia anterior à avaliação, o garoto relatou aos seus pais que havia eliminado um grande verme no vaso sanitário durante um movimento intestinal. Ele deu descarga antes que os pais pudessem visualizar o verme. O exame físico não apresentava nada digno de nota. O garoto não apresentava febre, tosse ou exantema e não reclamava de prurido anal. Em seu histórico de viagem não havia nada notável. O exame de uma amostra de fezes revelou o diagnóstico.

- 1. Quais parasitas intestinais de humanos são nematoides?
- 2. Qual nematoide era o mais provável nesse caso? Que organismos podem ser encontrados nas fezes?
- 3. Qual foi a forma mais provável de aquisição desse parasita?
- 4. Esse paciente estava sob o risco de autoinfecção?
- 5. Descreva o ciclo biológico desse parasita.
- 6. Esse parasita pode causar sintomas extraintestinais? Quais outros órgãos podem ser invadidos e o que pode estimular uma invasão extraintestinal?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Ascaris lumbricoides

Palavras-gatilho

Ascaris, verme "lombriga", obstrução intestinal, eosinofilia pulmonar, descorticado, nematoide

Biologia, Virulência e Doença

- Nematoides: helmintos mais frequentes nos Estados Unidos; também denominadas "lombrigas"
- Vermes de tom rosa, compridos (20 a 35 cm de comprimento) com ciclo de vida moderadamente complexo, mas, por outro lado, típico de nematoides intestinais
- Infecções causadas pela ingestão de apenas alguns ovos podem não produzir sintomas
- Mesmo um único adulto de verme *Ascaris* pode ser perigoso: pode migrar para o fígado, penetrar no intestino e causar lesões mecânicas nos tecidos
- A migração de um grande número de vermes, em estado de larva, para o pulmão pode produzir pneumonite
- Um bolo emaranhado de vermes maduros no intestino pode levar à obstrução e perfuração
- Uma grande carga de vermes pode resultar em desconforto abdominal, febre, distensão, náuseas

Epidemiologia

- *A. lumbricoides* é prevalente em áreas com saneamento pobre e nos locais onde as fezes humanas (processo de recolha de fezes sólidas) são usadas como fertilizante
- ≈ 1 bilhão de indivíduos infectados em todo o mundo
- Sem reservatório animal
- Os ovos de Ascaris são muito resistentes; podem sobreviver a temperaturas extremas, persistindo durante meses nas fezes e esgotos

Diagnóstico

- Exame microscópico do sedimento concentrado de fezes
- Os vermes adultos podem ser visualizados em radiografias abdominais; os colangiogramas podem revelar vermes no trato biliar
- A fase pulmonar da doença pode ser diagnosticada através da detecção de larvas e eosinófilos no catarro

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratamento da infecção sintomática altamente eficaz
- Fármacos de eleição: albendazol ou mebendazol
- Pacientes com infecções mistas (*Ascaris* junto com outros helmintos, *Giardia* ou *E. histolytica*) devem ser tratados em primeiro lugar para a ascaridíase, para evitar a provocação da migração dos vermes
- Prevenção: educação, melhoria no saneamento, evitar uso de fezes humanas como fertilizante

Onchocerca volvulus

Palavras-gatilho

Microfilária, macrofilária, nódulos, virilha pendente, mosca negra, África, endossimbionte do gênero *Wolbachia*, retalho de pele, cegueira dos rios

Biologia, Virulência e Doença

- Filariae: nematelminto fino e comprido; parasitas do sangue, linfa, tecidos subcutâneo e conjuntivo; transmitido por mosquitos e moscas com ferrão
- Onchocerca volvulus: nematoide em forma de filária, transmitido pela mosca negra (Simulium damnosum)
- A oncocercose afeta mais de 18 milhões de indivíduos em todo o mundo; causa cegueira em ≈ 5% dos indivíduos infectados
- Todos os vermes individuais e todas as fases do ciclo de vida do *O. volvulus* contêm um endossimbionte bacterianos do gênero *Wolbachia*
- A oncocercose clínica é caracterizada por infecção que envolve a pele, tecido subcutâneo, gânglios linfáticos, olhos
- Sinais/sintomas: febre, eosinofilia, urticária; a migração de microfilárias para os olhos causa lesões teciduais graves e cegueira

Epidemiologia

- *O. volvulus* é endêmico em muitos locais de África, sobretudo no Congo e na bacia do rio Volta; um termo comum é "cegueira dos rios"
- Prevalência: homens > mulheres; 50% dos homens em áreas endêmicas apresentam cegueira antes de atingir os 50 anos

Diagnóstico

- O diagnóstico é efetuado por demonstração de microfilárias em preparações de biópsias de pele provenientes das regiões subescapular ou glútea
- Em indivíduos com doença ocular, podem ser visualizados organismos na câmara ocular anterior com a ajuda de uma lâmpada de fenda

Tratamento, Prevenção e Controle

- Remoção cirúrgica de nódulos utilizada com frequência para eliminar vermes adultos e cessar a produção de microfilárias
- Ivermectina: uma dose única reduz o número de microfilárias nos olhos e na pele
- Proteção das picadas de mosca negra, diagnóstico rápido e tratamento das infecções para prevenir a transmissão

Os helmintos mais comuns reconhecidos nos Estados Unidos são primariamente nematoides intestinais, apesar de em outros países as infecções por nematoides no sangue e tecidos poderem causar doenças devastadoras. Os nematoides são a forma de parasitas intestinais mais facilmente reconhecida devido ao seu grande tamanho e aos corpos cilíndricos não segmentados; daí o nome comum de **vermes cilíndricos** (Fig. 75-1). Esses parasitas vivem primariamente como vermes adultos no trato intestinal, e as infecções por nematoides são mais comumente confirmadas por meio da detecção dos ovos característicos nas fezes. A identificação dos ovos deve ser realizada de maneira sistemática, levando-se em consideração o seu tamanho e formato, a espessura da casca e a presença ou ausência de estruturas especializadas como espessamentos polares, protuberâncias, espinhos e opérculos. A presença e as características da larva no interior dos ovos também podem ser úteis. Os nematoides mais comuns de importância médica estão listados na Tabela 75-1.

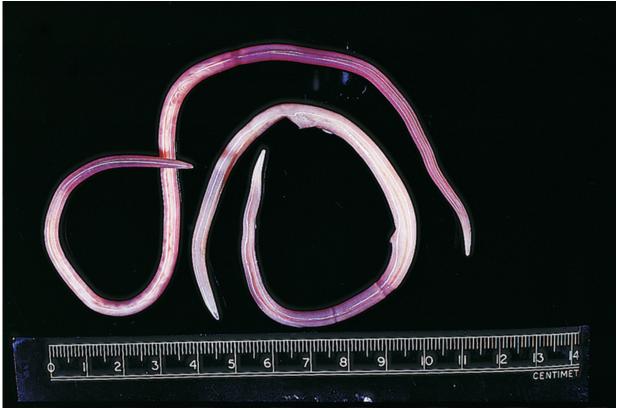


FIGURA 75-1 Ascaris lumbricoides adulto. (De Matthews BE, Croll NA: Comparative stereoscan electron micrographs of nematode heads, J Nematol 6:131–134, 1974, Figure 5.)



Tabela 75-1

Nematoides de Importância Médica

Parasita	Nome Comum	Doença
Enterobius vermicularis	Oxiúro	Enterobíase
Ascaris lumbricoides	Verme cilíndrico	Ascaríase
Toxocara canis	Áscaris do cão	Larva migrans visceral
Toxocara cati	Áscaris do gato	Larva migrans visceral
Baylisascaris procyonis	Áscaris do guaxinim	Larva migrans neural
Trichuris trichiura	Verme em forma de chicote	Tricuríase
Ancylostoma duodenale	Ancilostomídeo do Velho Mundo	Ancilostomose
Necator americanus	Ancilostomídeo do Novo Mundo	Ancilostomose
Ancylostoma braziliense	Ancilostomídeo do cão ou gato	Larva migrans cutânea
Strongyloides stercoralis	Verme fusiforme	Estrongiloidíase
Trichinella spiralis	Verme do porco	Triquinose
Wuchereria bancrofti	Filária bancroftiana	Filaríase
Brugia malayi	Filária malaiana	Filaríase
Loa loa	Verme do olho africano	Loíase
Mansonella spp.		Filaríase
Onchocerca volvulus		Oncocercíase, cegueira dos rios
Dirofilaria immitis	Verme do coração do cão	Dirofilaríase
Dracunculus medinensis	Verme da Guiné	Dracunculose

As **filárias** são nematoides alongados, delgados e parasitas do sangue, linfa e tecidos subcutâneo e conjuntivo. Todos esses nematoides são transmitidos por mosquitos ou moscas hematófagas. A maioria produz formas larvares denominadas **microfilárias**, que são observadas em amostras de sangue ou no tecido subcutâneo e biópsias de pele.

Enterobius vermicularis

Fisiologia e Estrutura

Enterobius vermicularis, oxiúro ou verme em forma de alfinete (do inglês, pinworm), é um verme pequeno e esbranquiçado reconhecido pelos pais que os encontram nas dobras perianais ou vagina de uma criança infectada. A infecção se inicia com a ingestão de ovos embrionados (Fig. 75-2). As larvas eclodem no intestino delgado e migram para o intestino grosso, onde sofrem maturação para adultos em 2 a 6 semanas. A fecundação da fêmea pelo macho produz os ovos assimétricos característicos. Em torno de 20 mil ovos são depositados na pele perianal pela migração da fêmea; eles rapidamente maturam e se tornam infectantes dentro de horas.

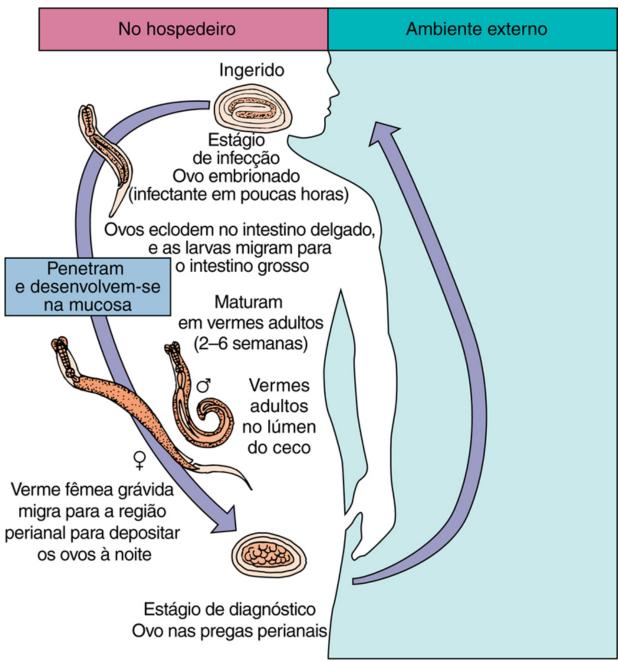


FIGURA 75-2 Ciclo biológico de Enterobius vermicularis.

Epidemiologia

E. vermicularis é cosmopolita, mas é mais comum nas regiões temperadas, onde a dispersão pessoa a pessoa é grande em condições de aglomeração, como em creches, escolas e instituições para doentes mentais. Estima-se que 500 milhões de casos de infecção por *Enterobius* sejam reportados mundialmente, e esta é a infecção helmíntica mais comum na América do Norte.

A infecção ocorre quando os ovos são ingeridos e a larva é liberada para se desenvolver na mucosa intestinal. Estes ovos podem ser transmitidos das mãos para a boca, quando crianças coçam as dobras perianais, em resposta à irritação causada pela migração da fêmea para deposição dos ovos, ou os ovos podem contaminar roupas e brinquedos em creches. Eles

também podem sobreviver por longos períodos na poeira que se acumula sobre portas, parapeitos de janelas e embaixo das camas nos quartos de indivíduos infectados. Os ovos carreados pela poeira podem ser inalados e deglutidos, produzindo a infecção. Também pode ocorrer a **autoinfecção** ("retroinfecção"), quando ovos eclodem nas dobras perianais e as larvas migram para o reto e intestino grosso. Os indivíduos infectados que manipulam alimentos também podem ser uma fonte de infecção. Não é conhecido nenhum reservatório animal para *Enterobius*. Os médicos devem estar cientes da epidemiologia relacionada de *Dientamoeba fragilis*; esse organismo se correlaciona bem com a presença de *E. vermicularis*, e se pensa que a *D. fragilis* é transportada na casca do ovo do verme.

Síndromes Clínicas

Muitas crianças e adultos não demonstram sintomas e servem apenas como portadores. Pacientes que são alérgicos às secreções dos vermes em migração sentem prurido forte, insônia e fadiga. O prurido pode causar escarificações repetidas da área irritada e levar a infecções bacterianas secundárias. Vermes que migram para o interior da vagina podem produzir problemas genitourinários e granulomas.

Os vermes fixados à mucosa do intestino podem produzir inflamação e formação de granuloma ao redor dos ovos. Embora os vermes adultos possam ocasionalmente invadir o apêndice, não existe nenhuma relação comprovada entre invasão pelo *Enterobius* e apendicite. Já foi relatada, de modo não frequente, a penetração na cavidade peritoneal, fígado e pulmões através da passagem pela parede intestinal.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da **enterobíase** é normalmente sugerido por meio das manifestações clínicas e confirmado pela detecção de ovos característicos na mucosa anal. Ocasionalmente, os vermes adultos são visualizados por laboratoristas em amostras de fezes, mas o método de escolha para o diagnóstico envolve a utilização de um *swab* anal com uma superfície adesiva que captura os ovos (Fig. 75-3) para exame microscópico. A coleta da amostra pode ser realizada com fita de celofane adesiva e transparente ou *swabs* disponíveis comercialmente. A amostra deve ser coletada quando a criança acorda pela manhã e antes do banho ou da defecação, para que sejam capturados os ovos depositados pela migração da fêmea durante a noite. Os pais podem coletar a amostra e entregá-la ao médico para exame microscópico imediato. Três *swabs*, 1 por dia durante 3 dias consecutivos, podem ser necessários para detectar os ovos no diagnóstico. Os ovos são raras vezes visualizados nas amostras fecais. Sinais sistêmicos da infecção, como eosinofilia, são raros.



FIGURA 75-3 Ovo de *Enterobius vermicularis*. Os ovos de parede fina apresentam tamanho de 50 a 60 × 20 a 30 μm, ovais e achatados em um lado (não porque as crianças sentam neles, mas esta é uma maneira fácil de correlacionar a morfologia do ovo com a epidemiologia da doença).

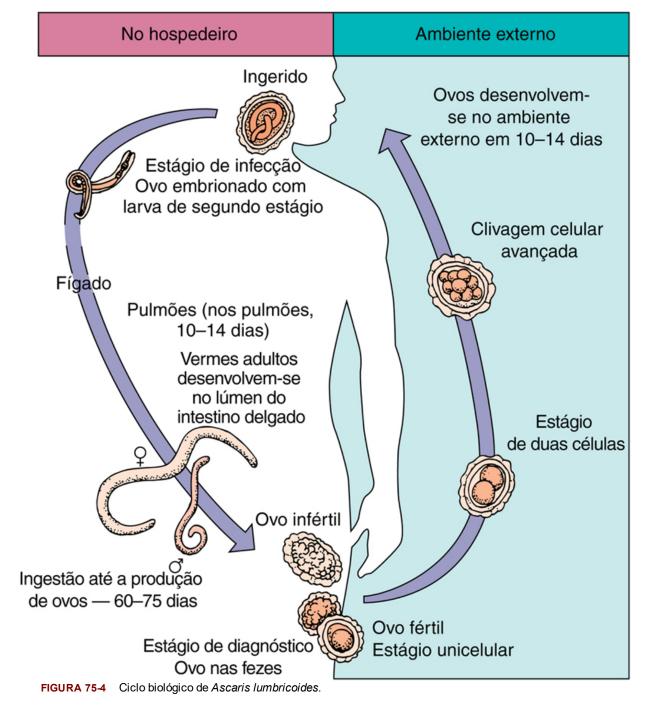
O fármaco de escolha é o albendazol ou mebendazol. O pamoato de pirantel e a piperazina são eficazes, mas a reinfecção é comum. Para evitar a reintrodução do organismo e reinfecção no ambiente familiar, é costumeiro que se trate toda a família simultaneamente. Embora as taxas de cura sejam altas, a reinfecção é comum. A repetição do tratamento após 2 semanas pode ser útil na prevenção de reinfecções.

Higiene pessoal, corte das unhas, lavagem cuidadosa das roupas de cama e tratamento imediato dos indivíduos infectados contribuem para o controle. Quando a limpeza é realizada na casa de uma família infectada, a retirada da poeira embaixo das camas, nos parapeitos das janelas e sobre as portas deve ser realizada com um pano molhado para evitar a inalação de ovos infectantes.

Ascaris lumbricoides

Fisiologia e Estrutura

Ascaris lumbricoides são vermes grandes (20 a 35 cm de comprimento), rosados, que possuem um ciclo de vida mais complexo que o de *E. vermicularis* (Fig. 75-1), mas são, por outro lado, típicos de um nematoide intestinal (Fig. 75-4).



O ovo infectante ingerido libera uma larva que penetra na parede duodenal, entra na corrente sanguínea, é carreada ao fígado e coração e então penetra na circulação pulmonar. A larva penetra então nos alvéolos dos pulmões, onde crescem e

sofrem mudas. Em cerca de 3 semanas, a larva migra pelo sistema respiratório e é tossida, deglutida e retorna ao intestino delgado.

À medida que os vermes machos e fêmeas sofrem maturação no intestino delgado (sobretudo jejuno), a fecundação da fêmea pelo macho inicia a produção de ovos, que pode somar até 200 mil ovos por dia por até 1 ano. As fêmeas também podem produzir ovos inférteis na ausência de machos. Os ovos são encontrados nas fezes de 60 a 75 dias após a infecção inicial. Os ovos fertilizados se tornam infectantes após aproximadamente 2 semanas no solo.

Epidemiologia

Ascaris lumbricoides é prevalente em áreas onde o saneamento é precário e onde as fezes humanas são utilizadas como fertilizantes. Devido à contaminação de alimentos e água por ovos de Ascaris, esse parasita, mais que qualquer outro, afeta a população mundial. Apesar de não ser conhecido nenhum reservatório animal para A. lumbricoides, uma espécie quase idêntica que acomete suínos, Ascaris suum, pode infectar humanos. Essa espécie é encontrada em criadores de suínos e está associada ao uso de estrume desses animais em jardinagem. Os ovos de Ascaris são bastante resistentes e podem sobreviver a temperaturas extremas e persistir por vários meses nas fezes e detritos. A ascaridíase é a infecção helmíntica mais comum em todo o mundo, com uma estimativa de um bilhão de pessoas infectadas.

Síndromes Clínicas

As infecções causadas pela ingestão de apenas poucos ovos podem não produzir sintomas; entretanto, mesmo um único adulto de *Ascaris* pode ser perigoso, pois ele pode migrar para o ducto biliar e fígado e causar danos teciduais. Além disso, como o verme possui um corpo resistente e flexível, ele pode de maneira ocasional perfurar o intestino, gerando peritonite com infecção secundária bacteriana (Caso Clínico 75-1). Os vermes adultos não se fixam à mucosa intestinal, mas dependem de movimentação constante para manter sua posição no lúmen intestinal.



Caso Clínico 75-1 Ascaríase Hepática

Hurtado et al. (*N Engl J Med* 354:1295-1303, 2006) descreveram o caso de uma mulher de 36 anos que apresentava dor abdominal recorrente no quadrante superior direito (QSD). Um ano antes, ela também apresentava dor abdominal no QSD, testes de função hepática anormais e sorologia positiva para hepatite C. O exame ultrassonográfico abdominal demonstrou dilatação biliar, e uma colangiopancreatografia endoscópica retrógrada (CPER) demonstrou várias pedras no ducto biliar comum, no ducto hepático esquerdo e no ducto intra-hepático esquerdo. A maioria das pedras foi removida. O exame do aspirado do ducto biliar foi negativo para ovos e parasitas. Um mês antes da internação atual, a paciente apresentou dor recorrente no QSD e icterícia. A repetição do CPER demonstrou de novo várias pedras nos ductos hepáticos principais comum e esquerdo; a remoção parcial foi conseguida.

Um mês depois, a paciente foi internada com dor epigástrica forte e febre. Ela nasceu no Vietnã e imigrou para os Estados Unidos no início de sua segunda década de vida. Ela não tinha história de viagem recente. Uma TC abdominal com contraste demonstrou perfusão anormal do lobo hepático esquerdo e dilatação das radículas biliares esquerdas com vários defeitos de preenchimento. A CPER demonstrou obstrução parcial do ducto principal hepático esquerdo, poucas pedras de tamanho pequeno e bile purulenta. O exame de imagem por ressonância magnética (RM) demonstrou aumento difuso do lobo esquerdo e da veia portal esquerda, sugestivo de inflamação. As culturas do sangue apresentaram crescimento de *Klebsiella pneumoniae*, e o exame de uma amostra fecal revelou poucas larvas rabditiformes de *Strongyloides stercoralis*. *Stents* biliares foram colocados, e a paciente foi tratada com levofloxacino. Duas semanas depois, ela foi internada no hospital, onde uma hepatectomia parcial foi realizada para o tratamento da colangite piogênica recorrente. O exame macroscópico do lobo hepático esquerdo demonstrou ductos biliares ectásicos contendo cálculos corados por bile. O exame microscópico do material do cálculo revelou coleções de ovos de parasitas e um nematoide degenerado e fragmentado. *Klebsiella* spp. foram identificadas nas culturas pelo laboratório de microbiologia. Os achados foram compatíveis com colângio-hepatite piogênica recorrente com infecção por *Ascaris lumbricoides* e *Klebsiella* spp. Além dos antibióticos para a infecção bacteriana, a paciente foi tratada com ivermectina para a infecção por *Strongyloides* e albendazol para *Ascaris*.

A migração errática do *A. lumbricoides* para a árvore pancreatobiliar com subsequente deposição de ovos, seguida de morte e degeneração de ambos, verme e ovos, tornou-se um ninho para a formação de cálculos e infecção bacteriana secundária. Apesar de não ser comum nos Estados Unidos, estima-se que a ascaríase hepática contribua com mais de 35% dos casos de doença biliar e pancreática no subcontinente indiano e em partes do sudeste da Ásia.

Após a infecção com muitas larvas, a migração dos vermes para os pulmões pode produzir pneumonite, que se assemelha a um ataque asmático. O envolvimento pulmonar está relacionado com o grau de hipersensibilidade induzido por infecções prévias e à intensidade da exposição atual, podendo estar acompanhado de eosinofilia e dessaturação de oxigênio. Também, um emaranhado de vermes maduros no intestino, formando uma espécie de bolo, pode resultar em obstrução, perfuração e oclusão do apêndice. Como mencionado anteriormente, a migração para o ducto biliar, vesícula biliar e fígado pode produzir dano tecidual grave. Essa migração pode ocorrer em resposta a febre, fármacos diferentes

daqueles utilizados para tratar ascaridíase e alguns anestésicos. Pacientes com muitas larvas podem também apresentar sensibilidade abdominal, febre, distensão e vômito.

Diagnóstico Laboratorial

O exame do sedimento obtido mediante concentração da amostra fecal revela ovos de casca mamilonada, corados por bile, férteis ou inférteis. Os ovos são ovais, de 55 a 75 µm de comprimento por 50 µm de largura. A casca espessa mais externa pode estar parcialmente removida (**ovo descorticado**). Ocasionalmente, vermes adultos são eliminados nas fezes, o que pode ser bastante dramático devido ao seu grande tamanho (20 a 35 cm de comprimento) (Fig. 75-1). Os radiologistas também podem visualizar os vermes no intestino, e colangiogramas frequentemente revelam sua presença no trato biliar do fígado. A fase pulmonar da doença pode ser diagnosticada ao se encontrar larvas e eosinófilos no escarro.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da infecção sintomática é altamente eficaz. O fármaco de escolha é o albendazol ou mebendazol; o pamoato de pirantel e a piperazina são alternativas. Pacientes com infecções parasitárias mistas (*A. lumbricoides*, outros helmintos, *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica*) nas fezes devem ser tratados primeiramente para a ascaridíase a fim de se evitar a migração dos vermes e a possível perfuração intestinal. Educação, melhora no saneamento e a não utilização de fezes humanas como fertilizantes são críticas. Um programa de tratamento em massa em áreas altamente endêmicas tem sido sugerido, mas isso pode não ser economicamente viável. Além disso, os ovos podem persistir em solos contaminados por 3 anos ou mais. Decerto, a melhora na higiene pessoal entre as pessoas que manipulam alimentos é um aspecto importante do controle.

Toxocara e Baylisascaris

Fisiologia e Estrutura

Toxocara canis, Toxocara cati e Baylisascaris procyonis são vermes ascarídeos que são parasitas naturais do intestino de cães, gatos e guaxinins, respectivamente. Esses organismos podem acidentalmente infectar humanos, produzindo estados de doença conhecidos como larva migrans visceral (LMV), larva migrans neural (LMN) e larva migrans ocular (LMO). Quando ingeridos por humanos, os ovos desses vermes podem eclodir liberando formas larvares, que não conseguem seguir o desenvolvimento normal de seu ciclo de vida, como ocorre nos hospedeiros naturais. Elas podem penetrar no intestino humano, atingir a corrente sanguínea e migrar como larva para vários tecidos humanos. Toxocara spp. são as causas mais comuns de LMV e LMO, enquanto B. procyonis tem sido altamente reconhecido como causa de LMN fatal. Apesar de Toxocara spp. não se desenvolverem além da forma larvar migratória, a larva de B. procyonis continua a crescer para um tamanho maior no hospedeiro humano.

Epidemiologia

Em qualquer lugar onde estejam presentes cães e gatos infectados, os ovos são uma ameaça aos humanos. Do mesmo modo, o contato com guaxinins ou suas fezes representa um risco significativo de infecção por *B. procyonis*. Isso é em especial verdadeiro para crianças que estão expostas mais facilmente ao solo contaminado e tendem a colocar objetos na boca.

Síndromes Clínicas

As manifestações clínicas da LMV, LMN e LMO em humanos estão relacionadas com a migração das larvas pelos tecidos. Estas podem invadir qualquer tecido do corpo, onde podem induzir sangramento, a formação de granulomas eosinofílicos e necrose. Pacientes podem ser assintomáticos e apresentar apenas **eosinofilia**, mas também podem apresentar doenças sérias diretamente relacionadas com o número e à localização das lesões causadas pela migração da larva, assim como ao grau de sensibilização do hospedeiro aos antígenos das larvas. Os órgãos mais frequentemente envolvidos são os pulmões, coração, rins, fígado, músculos esqueléticos, olhos e sistema nervoso central. A LMN é uma sequela comum da infecção por *B. procyonis* e é atribuída à extensa migração somática da larva dessa espécie (Caso Clínico 75-2). O crescimento continuado e migração no SNC produzem dano tecidual mecânico extenso. Sinais e sintomas devido à migração da larva incluem tosse, sibilos, febre, exantema, anorexia, convulsões, fadiga e desconforto abdominal. Ao exame, os pacientes podem apresentar hepatosplenomegalia e lesões nodulares pruriginosas na pele. A morte pode resultar de insuficiência respiratória, arritmia cardíaca ou dano cerebral. A doença ocular também pode ocorrer com a movimentação da larva através do olho e pode ser confundida com retinoblastoma maligno. O diagnóstico imediato é necessário para se evitar uma enucleação desnecessária.



Caso Clínico 75-2 Baylisascaríase

Gavin et al. (*Pediatr Infect Dis J* 21:971-975, 2002) descreveram o caso de um garoto de 2 anos e meio anteriormente normal, que foi internado no hospital apresentando febre e recente início de encefalopatia. A história pregressa era

significativa para pica e geofagia, e ele estava recebendo sulfato ferroso para anemia por deficiência de ferro. Estava em bom estado de saúde até 8 dias antes da internação, quando se desenvolveram temperatura de 38,5°C e tosse branda. Três dias antes da internação, desenvolveu crescente letargia e marcada sonolência. Estava irritável, confuso e atáxico. A família morava no subúrbio de Chicago, e não houve contato com indivíduos doentes ou animais em casa. Não existia história de viagem. Na internação, ele estava febril e letárgico, mas irritável e agitado quando perturbado. Estavam presentes enrijecimento do pescoço com hipertonicidade generalizada, hiper-reflexia e respostas plantares extensoras bilaterais. A contagem de leucócitos estava elevada e a eosinofilia estava presente. O exame do líquido cefalorraquidiano (LCR) revelou níveis elevados de proteína e leucócitos, com 32% de eosinófilos. Colorações de Gram, acidorresistentes e nanquim e testes para antígenos bacterianos e criptocócicos foram todos negativos. Terapias antibacteriana e antiviral de amplo espectro foram iniciadas empiricamente; entretanto, o paciente se tornou comatoso, com opistótono, postura descerebrada, hipertonicidade e tremores. Uma ressonância magnética craniana demonstrou áreas de aumento de sinal envolvendo ambos os hemisférios cerebelares. Culturas bacterianas, fúngicas, micobacterianas e virais de sangue e LCR foram negativas. Sorologias virais foram negativas, assim como testes para anticorpos contra Toxocara, cisticercose, coccidioidomicose, blastomicose e histoplasmose. Uma história epidemiológica detalhada revelou que 18 dias antes da hospitalização, a família participou de um piquenique em um subúrbio próximo. Diversos guaxinins foram regularmente observados nas proximidades, e o paciente foi avistado brincando e comendo sujeira embaixo das árvores. Anticorpos séricos e no LCR contra larvas de terceiro estágio de Baylisascaris procyonis foram demonstrados por teste de imunofluorescência indireta, com títulos aumentando de 1:4 para 1:1.024 em um período de 2 semanas. O paciente foi tratado com albendazol e corticosteroides por 4 semanas, mas permaneceu gravemente afetado, com marcada espasticidade generalizada e cegueira cortical. Exame subsequente do solo e dos detritos do local de brincadeiras das crianças revelou milhares de ovos infectantes de B. procyonis. Este caso enfatiza os efeitos devastadores da larva migrans neural. Em muitas regiões da América do Norte, grandes populações de guaxinins com altas taxas de infecções endêmicas por B. procyonis (p.ex., 60% a 80%) vivem próximas a humanos, o que sugere que o risco da infecção humana é provavelmente substancial.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de LMV, LMN e LMO baseia-se nos achados clínicos, na presença de **eosinofilia**, nos achados sorológicos e na exposição a cães, gatos ou guaxinins. Ensaios imunossorventes ligados à enzima estão disponíveis e parecem oferecer o melhor marcador sorológico para a doença. O exame das fezes de pacientes infectados não é útil, pois os adultos capazes de depositar ovos não estão presentes. Entretanto, o exame de material fecal de animais infectados frequentemente apoia o diagnóstico. O exame de tecido em busca de larvas pode proporcionar um diagnóstico definitivo, mas pode ser negativo devido a erros de coleta de amostra.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento é primariamente sintomático, visto que agentes antiparasitários não são comprovadamente benéficos. A terapia com agentes anti-helmínticos, como albendazol, mebendazol, dietilcarbamazina (DEC) ou tiabendazol, é com frequência utilizada. A terapia com corticosteroides pode salvar vidas se o paciente apresentar sérios envolvimentos pulmonares, miocárdicos, ou do SNC, já que um dos principais componentes da infecção é uma resposta inflamatória ao organismo. Até o momento, apesar do tratamento anti-helmíntico de casos de LMN por *B. procyonis*, não existem sobreviventes neurologicamente intactos. Estas zoonoses podem ser grandemente reduzidas se proprietários de animais de estimação conscientemente erradicarem vermes de seus animais e limparem o material fecal deles de jardins e parques de escolas. As áreas para brincadeiras de crianças e caixas de areia devem ser monitoradas de maneira cuidadosa. Os guaxinins não devem ser encorajados a visitar casas ou jardins em busca de alimentos, e sua manutenção como animais de estimação deve ser fortemente desencorajada.

Trichuris trichiura

Fisiologia e Estrutura

Comumente denominado **verme em forma de chicote** devido à sua semelhança ao cabo e ao açoite de um chicote (Fig. 75-5), *Trichuris trichiura* apresenta um ciclo biológico simples (Fig. 75-6). Os ovos ingeridos eclodem liberando larvas no intestino delgado, que migram para o ceco, onde penetram na mucosa e sofrem maturação para adultos. Em torno de 3 meses após a infecção inicial, a fêmea fecundada inicia a postura dos ovos e pode produzir de 3 mil a 10 mil ovos por dia. As fêmeas dos vermes podem viver por até 8 anos. Os ovos liberados no solo sofrem maturação e se tornam infectantes em 3 semanas. Os ovos de *T. trichiura* são característicos, com coloração escura pela bile, têm forma de barril e apresentam espessamentos polares na casca (Fig. 75-7).

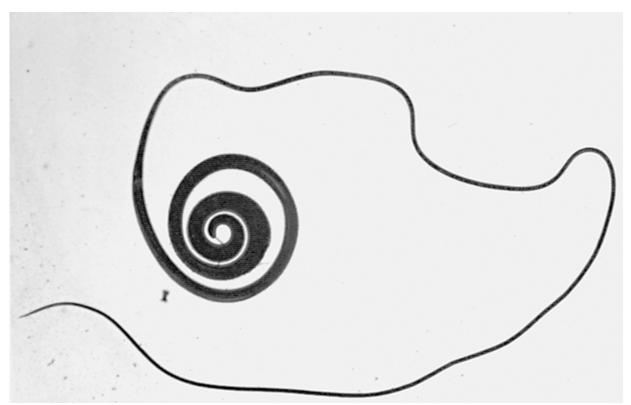


FIGURA 75-5 Trichuris trichiura, adulto macho. (De John DT, Petri WA Jr: Markell and Voge's medical parasitology, ed 9, Philadelphia, 2006, Elsevier.)

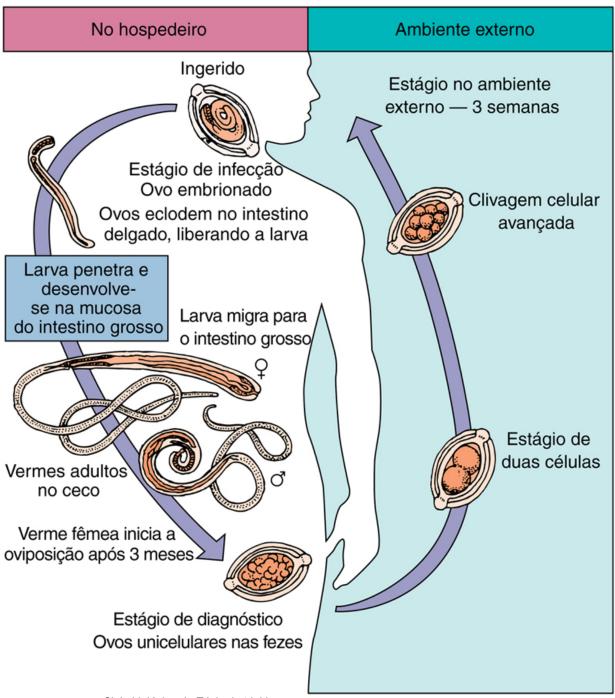


FIGURA 75-6 Ciclo biológico de *Trichuris trichiura*.



FIGURA 75-7 *Trichuris trichiura*, ovo. Os ovos têm forma de barril, medindo 50 × 40 µm, com uma parede espessa e duas massas mucoides proeminentes nas extremidades. Internamente, o ovo é não segmentado.

Epidemiologia

Da mesma forma que *A. lumbricoides, T. trichiura* apresenta uma distribuição mundial e sua prevalência está diretamente relacionada com o saneamento precário e com o uso de fezes humanas como fertilizante. Nenhum animal é reconhecido como reservatório.

Síndromes Clínicas

As manifestações clínicas da tricuríase estão em geral relacionadas com a intensidade da carga parasitária. A maioria das infecções ocorre com pequenos números de *Trichuris* e é normalmente assintomática, apesar de infecções bacterianas secundárias poderem ocorrer devido à cabeça dos vermes penetrarem profundamente na mucosa intestinal. Infecções por muitas larvas podem produzir dor e distensão abdominais, diarreia sanguinolenta, fraqueza e perda de peso. A apendicite pode ocorrer à medida que os vermes preencham o lúmen, e o prolapso retal é observado em crianças devido à irritação e ao esforço durante a defecação. A anemia e a eosinofilia também são encontradas em infecções graves.

Diagnóstico Laboratorial

O exame da amostra fecal revela os ovos característicos, corados por bile e apresentando espessamentos polares (Fig. 75-7). Infecções leves podem ser difíceis de serem detectadas devido à escassez dos ovos nas amostras fecais.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o albendazol ou mebendazol. Assim como na infecção por *A. lumbricoides*, a prevenção do *T. trichiura* depende da educação, boa higiene pessoal, saneamento adequado e da não utilização de fezes humanas como fertilizantes.

Ancilostomídeos (Vermes com ganchos)

Ancylostoma duodenale e Necator americanus

Fisiologia e Estrutura

Os dois ancilostomídeos dos humanos são *Ancylostoma duodenale* (ancilostomídeo do Velho Mundo) e *Necator americanus* (ancilostomídeo do Novo Mundo). Diferindo apenas na distribuição geográfica, estrutura das partes da cápsula bucal (Fig. 75-8) e tamanho relativo, essas duas espécies são discutidas em conjunto como sendo agentes de infecção por ancilostomídeos. A fase humana do ciclo de vida do ancilostomídeo é iniciada quando a larva filarioide (forma infectante) penetra através de pele intacta (Fig. 75-9). A larva então penetra na circulação; é carreada aos pulmões; e, da mesma maneira que o *A. lumbricoides*, é tossida, deglutida e se desenvolve em parasita adulto no intestino delgado. O adulto de *N. americanus* apresenta uma cabeça em forma de gancho, que originou o nome comumente utilizado em inglês (*hookworm*). Os vermes adultos depositam de 10 mil a 20 mil ovos por dia, que são liberados nas fezes. Sua deposição é iniciada de 4 a 8 semanas após a exposição inicial e pode persistir por até 5 anos. Em contato com o solo, as larvas rabditiformes (não infectantes) são liberadas dos ovos e dentro de 2 semanas se desenvolvem em larvas filarioides. As larvas filarioides podem então penetrar na pele exposta (p.ex., pés descalços) e iniciar um novo ciclo de infecção humana.

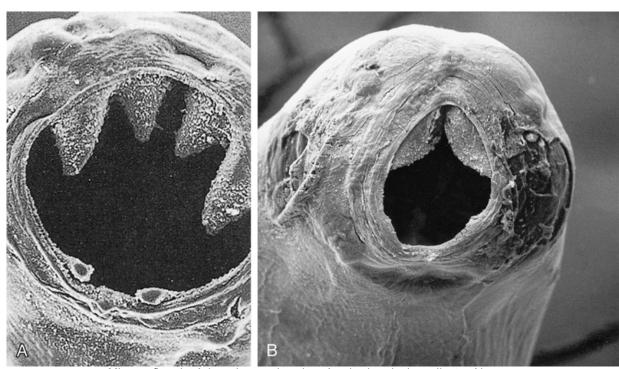


FIGURA 75-8 Micrografias eletrônicas de varredura das cápsulas bucais de ancilostomídeos adultos. **A,** *Ancylostoma duodenale* (ampliado 630 vezes). **B,** *Necator americanus* (ampliado 470 vezes). (De Peters W, Pasvol G: *Atlas of tropical medicine and parasitology,* ed 6, Philadelphia, 2007, Elsevier.)

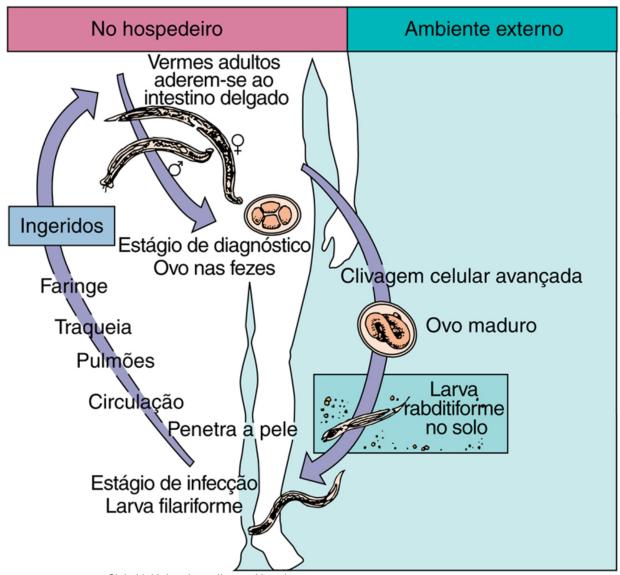


FIGURA 75-9 Ciclo biológico de ancilostomídeos humanos.

Ambas as espécies apresentam cápsula bucal destinada à hematofagia no tecido intestinal lesionado. *A. duodenale* apresenta dentes quitinosos, e *N. americanus* apresenta placas quitinosas cortantes (Fig. 75-8).

Epidemiologia

A transmissão da infecção por ancilostomídeos requer a deposição de fezes contendo ovos em solos sombreados e bem drenados, e é favorecida por condições quentes e úmidas (tropicais). As infecções por ancilostomídeos são relatadas mundialmente em locais onde o contato direto com o solo contaminado pode levar à doença humana, mas elas ocorrem sobretudo em regiões quentes tropicais e subtropicais e nas partes do sul dos Estados Unidos. Estima-se que mais de 900 milhões de indivíduos estejam infectados por ancilostomídeos ao redor do mundo, incluindo 700 mil nos Estados Unidos.

Síndromes Clínicas

A penetração de larvas na pele pode produzir uma reação alérgica e exantema nos locais de entrada e a migração da larva nos pulmões pode causar pneumonite e eosinofilia. Os vermes adultos produzem os sintomas gastrointestinais de náuseas, vômito e diarreia. À medida que o sangue é perdido pela alimentação dos vermes, desenvolve-se uma anemia microcítica hipocrômica. A perda de sangue diária é estimada em 0,15 a 0,25 mL para cada adulto de *A. duodenale* e em 0,03 mL para cada adulto de *N. americanus*. Em infecções crônicas graves, emaciação e retardo mental e físico podem ocorrer, estando relacionados com a anemia em virtude da perda de sangue e deficiências nutricionais. Os locais intestinais também podem ser secundariamente infectados por bactérias quando os vermes migram ao longo da mucosa intestinal.

Diagnóstico Laboratorial

O exame das fezes revela os ovos característicos, segmentados, não corados por bile, como demonstrados na Figura 75-10. As larvas não são encontradas em amostras de fezes, a menos que a amostra seja deixada à temperatura ambiente por 1 dia ou mais. Os ovos de *A. duodenale* e *N. americanus* não podem ser diferenciados. A larva deve ser examinada para poder identificar estes ancilostomídeos especificamente, apesar de ser desnecessário em termos clínicos.

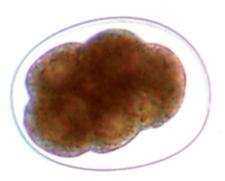


FIGURA 75-10 Ovo de ancilostomídeos humanos. Os ovos medem de 60 a 75 μm de comprimento e de 35 a 40 μm de largura, apresentam casca fina e no interior uma larva em desenvolvimento.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o albendazol ou mebendazol; o pamoato de pirantel é uma alternativa. Além da erradicação dos vermes para se interromper a perda sanguínea, a terapia com ferro é indicada para elevar os níveis de hemoglobina ao normal. A transfusão de sangue pode ser necessária em casos graves de anemia. Educação, melhora das condições sanitárias e controle dos dejetos fecais humanos são medidas preventivas críticas. O uso de calçados em áreas endêmicas ajuda a reduzir a prevalência da infecção.

Ancylostoma braziliense

Fisiologia e Estrutura

Ancylostoma braziliense, uma espécie de ancilostomídeo, é naturalmente parasita do intestino de cães e gatos e acidentalmente infecta humanos. Ele produz uma doença denominada larva migrans cutânea, mas também chamada de bicho geográfico e dermatite serpiginosa. A larva filarioide desse ancilostomídeo penetra na pele intacta, mas não consegue continuar seu ciclo de vida nos humanos. A larva permanece presa na pele do hospedeiro errado por semanas ou meses, vagando pelo tecido subcutâneo e criando túneis serpentiformes.

Epidemiologia

Semelhante à situação do *Ascaris*, a ameaça de infecção pelo *A. braziliense* é maior entre crianças, que entram em contato com solo ou caixas de areia contaminadas por fezes de animais contendo ovos de ancilostomídeos. As infecções são prevalentes por todo o ano nas praias de regiões tropicais e subtropicais; no verão, a infecção é relatada ao norte, na região de fronteira entre Canadá e Estados Unidos.

Síndromes Clínicas

A migração das larvas pode provocar uma reação eritematosa e vesicular grave. O prurido e a escarificação da pele irritada podem levar a infecções bacterianas secundárias. Cerca de metade dos pacientes desenvolve infiltrados pulmonares transitórios com eosinofilia periférica (síndrome de Löeffler), presumivelmente resultante de uma migração pulmonar das larvas.

Diagnóstico Laboratorial

Ocasionalmente, as larvas são recuperadas em biópsias de pele ou após o congelamento da pele, mas a maioria dos diagnósticos baseia-se na aparência clínica dos túneis e no histórico de contato com fezes de cão e gato. As larvas são raramente encontradas no escarro.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o albendazol; ivermectina e tiabendazol são alternativas. Anti-histamínicos podem ser úteis no controle do prurido. Essa zoonose pode ser reduzida por meio da educação de proprietários de animais de estimação para tratá-los contra infecções por vermes e recolher as fezes dos animais de jardins, praias e caixas de areia. Em áreas endêmicas, sapatos ou sandálias devem ser utilizados para prevenir a infecção.

Strongyloides stercoralis

Fisiologia e Estrutura

Embora a morfologia desses vermes e a epidemiologia de suas infecções sejam similares às dos ancilostomídeos, o ciclo biológico de *Strongyloides stercoralis* (Fig. 75-11) difere em três aspectos: (1) os ovos eclodem liberando larvas no intestino antes de serem eliminadas nas fezes; (2) as larvas podem maturar para a forma filarioide no intestino e causar autoinfecção; e (3) um ciclo de vida livre, não parasitário, pode se estabelecer fora do hospedeiro humano.

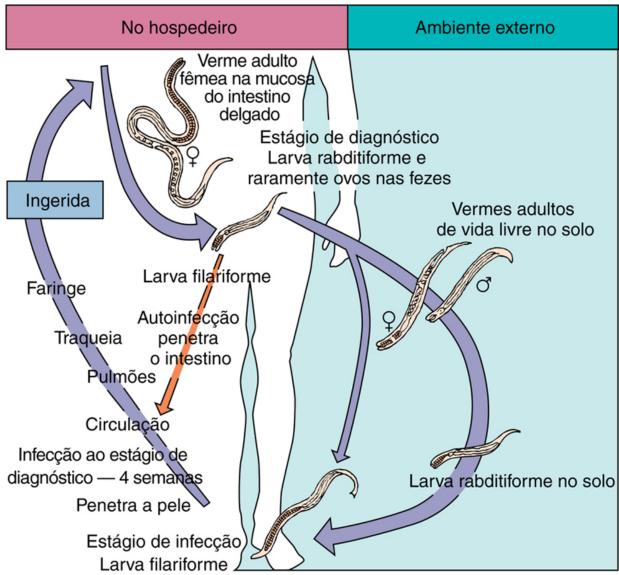


FIGURA 75-11 Ciclo biológico de Strongyloides stercoralis.

No desenvolvimento direto, como nos ancilostomídeos, uma larva de *S. stercoralis* penetra na pele e entra na circulação, seguindo o curso pulmonar. Ela migra para a traqueia e é deglutida, e adultos se desenvolvem no intestino delgado. Fêmeas adultas penetram no interior da mucosa do duodeno e se reproduzem por partenogênese. Cada fêmea produz cerca de uma dúzia de ovos por dia, que eclodem na mucosa e liberam larvas **rabditiformes** no lúmen do intestino. As larvas rabditiformes são distinguidas das larvas de ancilostomídeos pela sua cápsula bucal curta e por um grande primórdio

genital. As larvas rabditiformes são eliminadas nas fezes e podem continuar o ciclo direto por meio da transformação em larvas **filariformes** infectantes, ou podem se desenvolver em vermes adultos de vida livre e iniciar o ciclo indireto.

No desenvolvimento indireto, as larvas no solo se desenvolvem em adultos de vida livre que produzem ovos e larvas. Diversas gerações dessa existência não parasitária podem ocorrer antes de uma nova larva se tornar um parasita capaz de penetrar em tecido.

Finalmente, na **autoinfecção**, as larvas rabditiformes no intestino não são eliminadas nas fezes e se tornam larvas filarioides. Estas penetram na mucosa intestinal ou pele perianal e seguem o curso através da circulação e estruturas pulmonares, são tossidas e então deglutidas; nesse ponto, se tornam adultas, produzindo mais larvas no intestino. Tal ciclo pode persistir por anos e levar à **hiperinfecção** e à infecção massiva ou disseminada, frequentemente fatal.

Epidemiologia

Semelhante aos ancilostomídeos que necessitam de temperaturas quentes e umidade, *S. stercoralis* demonstra baixa prevalência, mas de certa forma uma ampla distribuição geográfica, incluindo partes do norte dos Estados Unidos e Canadá. A transmissão sexual também ocorre. São reconhecidos reservatórios animais, como animais de estimação.

Síndromes Clínicas

Indivíduos com **estrongiloidíase** são frequentemente acometidos por pneumonite devido à migração das larvas, semelhante à encontrada na ascaridíase e ancilostomíase. A infecção intestinal é via de regra assintomática. Entretanto, cargas parasitárias altas podem envolver os ductos biliares e pancreáticos, todo o intestino delgado e o cólon, causando inflamação e ulceração que leva a dor e sensibilidade epigástricas, vômito, diarreia (ocasionalmente sanguinolenta) e má absorção. Sintomas que imitam a úlcera péptica, em conjunto com eosinofilia periférica, devem sugerir fortemente o diagnóstico de estrongiloidíase.

A autoinfecção pode levar à estrongiloidíase crônica, que pode durar anos, mesmo em áreas não endêmicas. Apesar de muitas dessas infecções crônicas poderem ser assintomáticas, em torno de 2/3 dos pacientes apresentam sintomas episódicos recorrentes referentes ao envolvimento da pele, pulmões e trato intestinal. Indivíduos com estrongiloidíase crônica estão sob risco de desenvolver síndrome de hiperinfecção grave e ameaçadora à vida, se o equilíbrio hospedeiroparasita for quebrado por qualquer fármaco ou doença que comprometa o estado imune do hospedeiro (Caso Clínico 75-3). É mais comum que a síndrome da hiperinfecção seja observada em indivíduos imunocomprometidos por malignidades (em especial malignidades hematológicas), terapia com corticosteroides, ou ambas. A síndrome da hiperinfecção também já foi observada em pacientes que foram submetidos ao transplante de órgãos sólidos e em pessoas desnutridas. A perda da função imunocelular pode estar associada à conversão de larvas rabditiformes em filariformes, seguida da disseminação da larva via circulação para quase qualquer órgão. Mais comumente, a infecção extraintestinal envolve o pulmão e inclui broncospasmo, infiltrados difusos e ocasionalmente cavitação. A disseminação que envolve os linfonodos abdominais, fígado, baço, rins, pâncreas, tireoide, coração, cérebro e meninges é comum. Os sintomas intestinais da síndrome de hiperinfecção incluem diarreia intensa, má absorção e anormalidades eletrolíticas. Notavelmente, a síndrome de hiperinfecção está associada à taxa de mortalidade de aproximadamente 86%. Sepse bacteriana, meningite, peritonite e endocardite secundárias à dispersão das larvas a partir do intestino são complicações frequentes e quase sempre fatais da síndrome de hiperinfecção.



Caso Clínico 75-3 Hiperinfecção por Strongyloides

Gorman et al. (*Infect Med* 23:480, 2006) descreveram o caso de miosite necrosante complicado por hemorragia alveolar difusa e sepse, após terapia com corticosteroides. O paciente era um homem de 46 anos proveniente do Camboja, com história de fenômeno de Raynaud. Ele compareceu a uma clínica reumatológica com agravamento dos sintomas da síndrome de Raynaud e dores musculares difusas. Era empregado como motorista de caminhão e havia emigrado do Camboja 30 anos antes. Estudos laboratoriais pertinentes incluíram níveis de creatina quinase e aldolase marcadamente elevados. Estudos da função pulmonar demonstraram redução da capacidade vital forçada, volume expiratório forçado e capacidade de difusão do monóxido de carbono. Uma tomografia computadorizada (TC) de alta resolução do tórax demonstrou opacidade em vidro fosco branda em ambas as bases pulmonares e espessamento dos septos interlobulares. A biópsia muscular demonstrou necrose de miócitos e atrofia aleatória, mas sem a presença de células inflamatórias. A broncoscopia não apresentou nada importante, e todas as culturas foram negativas. O paciente iniciou a terapia com prednisona para uma suposta miopatia necrosante secundária a doença do tecido conjuntivo não diferenciado.

Um mês depois, ele foi internado no hospital com profunda fraqueza muscular e dispneia, que melhoraram com a administração de metilprednisolona e imunoglobulina endovenosa. Três semanas depois, o paciente foi readmitido com febre, náuseas, vômito, dor abdominal e dor articular difusa. Uma TC do abdome sugeriu intussuscepção do intestino delgado e colite, mas seus sintomas melhoraram sem tratamento. Uma outra TC de alta resolução do tórax demonstrou o início de faveolamento e agravamento dos infiltrados intersticiais. Foi agendada uma biópsia de pulmão para o paciente; entretanto, enquanto esperava pela biópsia, sofreu uma deterioração abrupta e fulminante, com hemoptise e insuficiência respiratória hipoxêmica, que necessitou de entubação e ventilação mecânica. O raio X de tórax demonstrou novos infiltrados bilaterais difusos. O paciente desenvolveu um abdome agudo acompanhado de púrpura no tronco

inferior. Uma TC abdominal demonstrou pancolite. Seguiu-se choque séptico refratário devido à bacteremia por *Escherichia coli* e acidose lática. A broncoscopia mostrou hemorragia alveolar difusa, e foram demonstradas numerosas larvas de *Strongyloides stercoralis* na coloração de um aspirado de secreções endotraqueais. A sorologia foi positiva para anticorpos anti-*Strongyloides*. Apesar do tratamento com ivermectina, albendazol, cefepima, vancomicina, vasopressores, esteroides e diálise, o paciente faleceu.

Este caso de síndrome de hiperinfecção por *Strongyloides* enfatiza a importância da triagem e tratamento de pessoas sob risco de infecção latente por *S. stercoralis* (endêmica em áreas tropicais e subtropicais), antes do início de terapia imunossupressora. Precauções de contato devem ser tomadas em pacientes com síndrome de hiperinfecção, devido ao risco de infecção dos profissionais de saúde e visitantes sob exposição a larvas infectantes nas fezes e secreções do paciente.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da estrongiloidíase pode ser difícil devido à eliminação intermitente de pequenas quantidades de larvas de primeiro estágio nas fezes. O exame do sedimento proveniente da concentração de amostra fecal revela as larvas(Fig. 75-12), mas em contraste com a infecção por ancilostomídeos, na infecção por *S. stercoralis* os ovos na maioria das vezes não são visualizados. Recomenda-se a coleta de três amostras de fezes, 1 por dia por 3 dias (assim como para *G. duodenalis*), pois as larvas de *S. stercoralis* podem apresentar intermitência, com muitas larvas presentes em um dia e poucas ou nenhuma no dia seguinte. Diversos autores indicam o **método de Baermann e Moraes** para concentração de larvas vivas de *S. stercoralis* de amostras fecais. Esse método utiliza um funil com uma válvula reguladora e uma gaze inserida. O funil é preenchido com água morna a um nível que recobre a gaze, e uma amostra de fezes é colocada na gaze, parcialmente em contato com a água. As larvas presentes nas fezes migram através da gaze em direção à água e então sedimentam-se no pescoço do funil, onde elas podem ser detectadas por microscopia de pequeno aumento. Quando ausentes nas fezes, as larvas podem ser detectadas em aspirados duodenais ou em escarro no caso de infecção maciça. Finalmente, podem ser utilizadas culturas de larvas a partir da amostra fecal, utilizando culturas em carvão ou o método da placa de ágar, embora não sejam realizados na rotina na maioria dos laboratórios. A demonstração de anticorpos anti-*Strongyloides* no sangue pode ser útil como teste de triagem ou como um auxiliar para o diagnóstico.



FIGURA 75-12 Larvas de *Strongyloides stercoralis*. As larvas medem e 180 a 380 μm de comprimento e de 14 a 24 μm de largura. Elas são diferenciadas das larvas de anciolostomídeos pelo comprimento da cavidade bucal e esôfago e pela estrutura do primórdio genital.

Tratamento, Prevenção e Controle

Todos os pacientes infectados devem ser tratados para prevenir a autoinfecção e uma potencial disseminação (hiperinfecção) do parasita. O medicamento de escolha é a ivermectina, com albendazol ou mebendazol como alternativa. Pacientes em áreas endêmicas, que estejam se preparando para se submeterem à terapia imunossupressora, devem realizar ao menos três exames de fezes para excluir a infecção por *S. stercoralis* e, portanto, evitar riscos de síndrome de hiperinfecção. Medidas rígidas de controle da infecção devem ser reforçadas quando os médicos cuidam de pacientes com síndrome de hiperinfecção, pois as fezes, saliva, vômito e fluidos corpóreos podem conter larvas filarioides infectantes. Assim como para os ancilostomídeos, o controle de *Strongyloides* spp. requer educação, saneamento adequado e tratamento imediato de infecções existentes.

Trichinella spiralis

Fisiologia e Estrutura

Trichinella spiralis é a mais importante causa de doença humana, mas outras espécies, como *T. pseudospiralis* e *T. britovi*, também podem causar **triquinose**. A forma adulta desse organismo vive nas mucosas duodenal e jejunal de mamíferos que se alimentam de carne ao redor do mundo. A forma larvar infectante está presente nos músculos estriados de mamíferos carnívoros e onívoros. Dentre os animais domésticos, os suínos são os envolvidos com mais frequência. A Figura 75-13 ilustra o ciclo biológico direto e simples, que termina na musculatura de humanos, onde a larva eventualmente morre e calcifica-se.

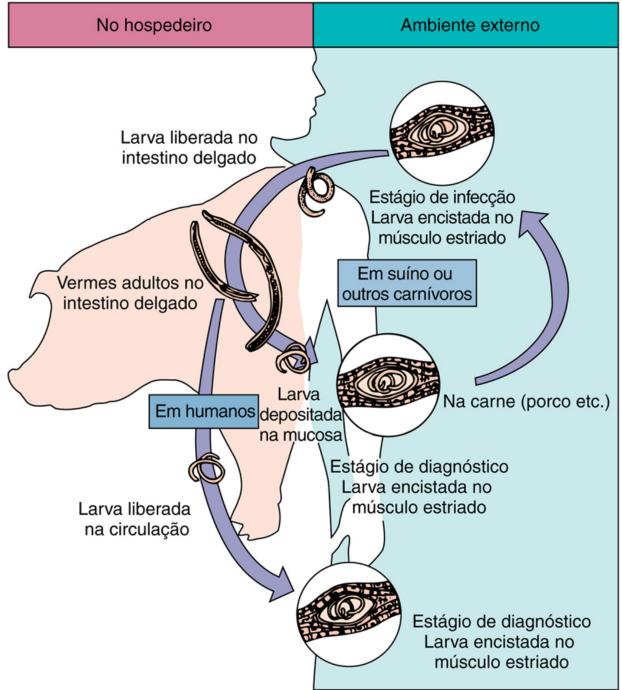


FIGURA 75-13 Ciclo biológico de Trichinella spiralis.

A infecção tem início quando a carne que contém larvas encistadas é digerida. As larvas deixam a carne no intestino delgado e, em 2 dias, se desenvolvem em vermes adultos. Uma única fêmea fecundada produz mais de 1.500 larvas em 1 a 3 meses. Essas larvas se mudam da mucosa intestinal para a corrente sanguínea e são carreadas na circulação para vários locais da musculatura ao longo do corpo, onde se enrolam em fibras musculares estriadas e se tornam encistadas (Fig. 75-14). Os músculos invadidos incluem, mais frequentemente, os músculos extraoculares do olho; a língua; os músculos deltoide, peitoral e intercostal; o diafragma; e o músculo gastrocnêmio. As larvas encistadas permanecem viáveis por muitos anos e são infectantes se ingeridas por um novo hospedeiro animal. A larva de *T. pseudospiralis* na musculatura não induz a formação de um cisto e gera menos inflamação que a de *T. spiralis*.

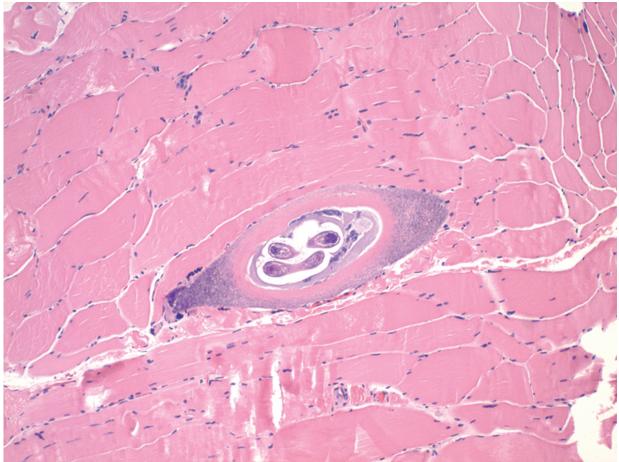


FIGURA 75-14 Larva encistada de *Trichinella spiralis* em uma amostra de biópsia de músculo. (De CDC Public Health Image Library.)

Epidemiologia

A triquinose ocorre mundialmente em humanos e sua maior prevalência está associada ao consumo de produtos suínos. Além de sua transmissão a partir de suínos, muitos animais carnívoros e onívoros albergam o organismo e são potenciais fontes de infecção humana. Notavelmente, os ursos polares e morsas no Ártico são responsáveis por epidemias em populações humanas, especialmente por uma cepa de *T. spiralis* (*T. natira*), que é mais resistente ao congelamento que as cepas de *T. spiralis* encontradas nos Estados Unidos e em outras regiões temperadas. Estima-se que mais de 1,5 milhão de americanos carreiem cistos vivos de *Trichinella* em sua musculatura e que 150 mil a 300 mil adquiram novas infecções a cada ano.

Síndromes Clínicas

A triquinose é uma das poucas doenças parasitárias teciduais ainda encontradas nos Estados Unidos. Como em outras infecções parasitárias, a maioria dos pacientes apresenta sintomas mínimos ou ausentes. A apresentação clínica depende largamente da carga parasitária tecidual e da localização da larva em migração. Pacientes nos quais são depositadas até 10 larvas por grama de tecido são via de regra assintomáticos; aqueles com pelo menos 100 larvas quase sempre apresentam doença significativa; e aqueles com 1.000 a 5.000, apresentam um curso bastante sério que ocasionalmente termina em morte. Em infecções brandas com poucas larvas realizando migração, pacientes podem apresentar apenas uma síndrome semelhante a uma gripe, com febre leve e diarreia branda. Com uma migração larvar mais extensa, ocorrem febre persistente, distúrbios gastrointestinais, marcada eosinofilia, dor muscular e edema periorbital. Hemorragias "em estilhaço" subungueais, um achado comum, são provavelmente causadas por vasculite resultante de secreções tóxicas da larva em migração. Em infecções maciças, sintomas neurológicos graves — incluindo psicose, meningoencefalite e acidente cerebrovascular — podem ocorrer.

Pacientes que sobrevivem à migração, à destruição muscular e ao encistamento da larva em infecções moderadas experimentam um declínio dos sintomas clínicos em 5 ou 6 semanas. A triquinose letal resulta quando miocardite, encefalite e pneumonite se combinam; o paciente morre 4 a 6 semanas após a infecção. A parada respiratória frequentemente segue uma invasão maciça e destruição muscular no diafragma.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico normalmente é estabelecido por meio de observações clínicas, em especial quando uma epidemia pode ser rastreada com o consumo de carne de porco ou urso malcozida. O laboratório pode confirmar o diagnóstico, se larvas

encistadas forem detectadas na carne implicada no caso, ou em uma biópsia muscular do paciente. Uma marcada eosinofilia está caracteristicamente presente em pacientes com triquinose. Procedimentos sorológicos também estão disponíveis para confirmação do diagnóstico. Títulos significativos de anticorpos estão normalmente ausentes antes da terceira semana de doença, mas podem persistir por anos.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da triquinose é sobretudo sintomático, visto que não existem bons agentes antiparasitários para larvas teciduais. O tratamento utilizando mebendazol contra vermes adultos, presentes no intestino, pode parar a produção de novas larvas. Esteroides, juntamente com tiabendazol ou mebendazol, são recomendados para os sintomas graves. Em infecções causadas por *T. pseudospiralis*, o albendazol pode ser eficaz. A educação com relação à transmissão da doença a partir da carne do suíno e urso é essencial, especialmente a recomendação de que a carne de suíno e urso seja cozida até que o seu interior esteja cinza. O cozimento com uso do micro-ondas e a defumação ou secagem da carne não matam todas as larvas.

Leis americanas que regulamentam a alimentação de suínos com lixo ajudam a controlar a transmissão, como as regulamentações que controlam a procura de alimentos por ursos em latas de lixo e parques públicos. O congelamento da carne suína, como conduzido em abatedouros de inspeção federal, tem reduzido a transmissão. O congelamento rápido da carne suína a –40°C efetivamente destrói os organismos, como uma baixa temperatura de estocagem a –15°C por 20 dias ou mais.

Wuchereria bancrofti e Brugia malayi

Fisiologia e Estrutura

Devido às suas muitas similaridades, *Wuchereria bancrofti* e *Brugia malayi* serão discutidas juntas. A infecção humana se inicia pela penetração de larvas infectantes, presentes na saliva de um mosquito hematófago, em um ferimento de picada (Fig. 75-15). Várias espécies de mosquitos dos gêneros *Anopheles, Aedes* e *Culex* são vetores das **filaríases bancroftiana e malaia**. A larva migra do local da picada para o sistema linfático, principalmente nos braços, pernas ou virilha, onde o crescimento larvar para verme adulto ocorre. De 3 a 12 meses após o início da infecção, o verme adulto macho fecunda a fêmea, que então produz **microfilárias** larvais embainhadas, que encontram o caminho para a circulação. A presença de microfilárias no sangue é diagnóstica para a doença humana e é infectante para os mosquitos hematófagos. No mosquito, a larva se move através do estômago e músculos torácicos em estágios do desenvolvimento e finalmente migra para a probóscide. Nesse local, elas se tornam larvas de terceiro estágio infectantes e são transmitidas pela picada do mosquito durante seu repasto sanguíneo. A forma adulta em humanos pode persistir por até 10 anos. Esses parasitas carreiam **endossimbiontes bacterianos** do gênero *Wolbachia* e dependem desses para desenvolverem atividades normais metabólicas e reprodutivas. Assim, surge o potencial para o uso de agentes antibacterianos comuns, como doxiciclina, para o tratamento de vermes adultos filarídeos.

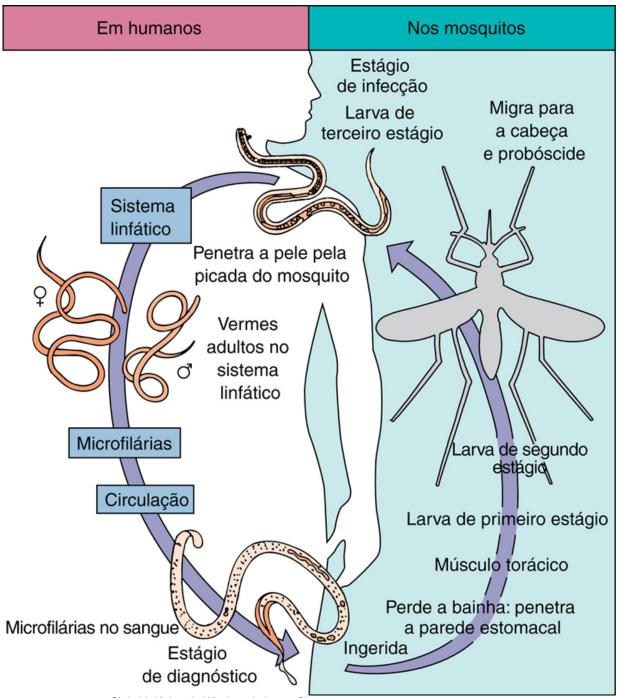


FIGURA 75-15 Ciclo biológico de Wuchereria bancrofti.

Epidemiologia

Infecções por *W. bancrofti* ocorrem em áreas tropicais e subtropicais e são endêmicas na África central, ao longo da costa Mediterrânea, e em muitas partes da Ásia, incluindo China, Coreia, Japão e Filipinas. Elas também estão presentes no Haiti, Trinidad, Suriname, Panamá, Costa Rica e Brasil. Nenhum reservatório animal foi identificado. *B. malayi* é encontrada principalmente na Malásia, Índia, Tailândia, Vietnam e partes da China, Coreia, Japão e muitas ilhas do Pacífico. São reconhecidos reservatórios animais como gatos e macacos.

Síndromes Clínicas

Em alguns pacientes, não existe nenhum sinal de doença, mesmo que algumas amostras de sangue demonstrem a presença de muitas microfilárias. Em outros pacientes, os sintomas agudos iniciais são febre, linfangite e linfadenite com calafrios e ataques febris recorrentes. A apresentação aguda parece resultar da resposta inflamatória à presença de vermes juvenis sofrendo muda e de adultos mortos ou em processo de morte no interior de vasos linfáticos. À medida que a infecção progride, ocorre aumento dos linfonodos, possivelmente envolvendo muitas partes do corpo, incluindo as extremidades, o escroto e os testículos, com ocasional formação de abscesso. Isso resulta da obstrução física da linfa nos vasos, causada pela presença dos vermes adultos e da reação do hospedeiro no sistema linfático. Esse processo pode ser complicado por infecções bacterianas recorrentes, que contribuem para o dano tecidual. O espessamento e a hipertrofia dos tecidos

infectados pelos vermes podem levar ao aumento dos tecidos, especialmente as extremidades, progredindo para **elefantíase** filariana. A filaríase desse tipo é uma doença crônica, debilitante e desfigurante, necessitando de diagnóstico e tratamento imediatos. Ocasionalmente, podem ser observadas ascites e efusões pleurais secundárias à ruptura de vasos linfáticos aumentados na cavidade peritoneal ou pleural.

Diagnóstico Laboratorial

A eosinofilia está normalmente presente durante os episódios inflamatórios agudos; entretanto, a demonstração de microfilárias no sangue é necessária para o diagnóstico definitivo. Assim como na malária, as microfilárias podem ser demonstradas em esfregaços sanguíneos corados pelo Giemsa em infecções por *W. bancrofti* e *B. malayi* (Figs. 75-16 e 75-17). A concentração de amostras de sangue contendo anticoagulante e amostras de urina também são procedimentos válidos. Esfregaços da camada leucoplaquetária concentram as células brancas e são úteis para a detecção de microfilárias. A presença de pequenas quantidades de microfilárias no sangue pode ser detectada por uma técnica de filtração através de membrana, na qual o sangue contendo anticoagulante é misturado à solução salina e filtrado em uma membrana de 5,0 µm de porosidade. Após várias lavagens com água destilada ou solução salina, o filtro é examinado microscopicamente em busca de microfilárias vivas, ou este é seco, fixado e corado como o esfregaço delgado de sangue.



FIGURA 75-16 Coloração de Giemsa de microfilária embainhada de Wuchereria bancrofti em esfregaço sanguíneo; 245 a 295 μm de comprimento × 7 a 10 μm de largura.

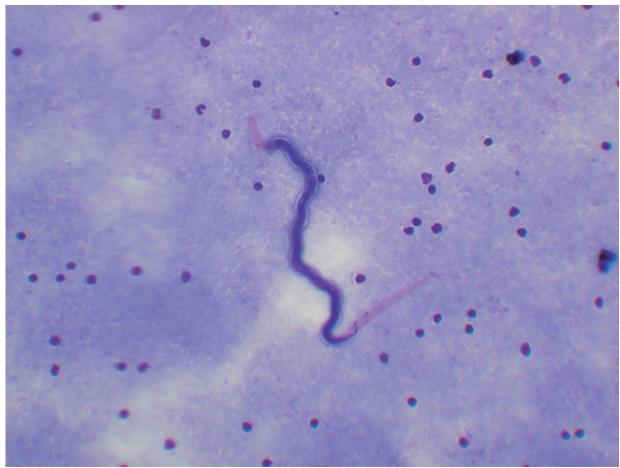


FIGURA 75-17 Coloração de Giemsa de microfilária embainhada de *Brugia malayi* em esfregaço sanguíneo; 180 a 230 μm de comprimento × 5 a 6 μm de largura.

W. bancrofti e B. malayi apresentam tanto periodicidade noturna como subperiódica na produção de microfilárias. A periodicidade noturna resulta em grandes números de microfilárias no sangue à noite, enquanto, na forma subperiódica, as microfilárias estão presentes a todo o momento, com um pico à tarde.

W. bancrofti, assim como *B. malayi* e *Loa loa*, apresenta uma bainha em sua microfilária. Isso pode ser o primeiro passo na identificação dos tipos específicos de filaríase. Uma posterior identificação baseia-se no estudo de estruturas da cabeça e cauda (Fig. 75-18). Clinicamente, a identificação exata de espécie não é crítica, pois o tratamento para todas as infecções por filárias, exceto *Onchocerca volvulus*, é idêntico.

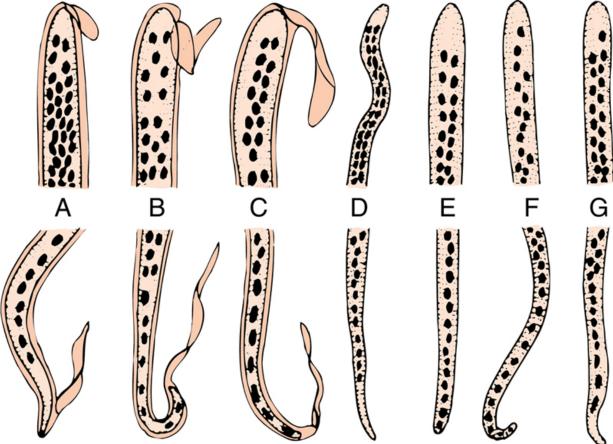


FIGURA 75-18 Diferenciação das microfilárias. A identificação de microfilárias é baseada na presença de uma bainha cobrindo a larva, bem como na distribuição dos núcleos na região caudal. A, Wuchereria bancrofti. B, Brugia malayi. C, Loa loa. D, Onchocerca volvulus. E, Mansonella perstans. F, Mansonella streptocerca. G, Mansonella ozzardi.

O teste sorológico também está disponível em laboratórios de referência, de modo que o diagnóstico pode ser alcançado. A detecção de antígenos circulantes de filárias é promissora, mas não está largamente disponível como teste diagnóstico.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento é de pequeno benefício na maioria dos casos crônicos de filaríase linfática devido às cicatrizes e ao linfedema. No momento, o alvo do tratamento é o estágio de microfilária. A descoberta de **endossimbiontes bacterianos do gênero** *Wolbachia* estimula o uso de antibióticos, como a doxiciclina, para tratar os vermes adultos. Esse fato é importante, visto que (até hoje) não existe fármaco eficaz que atinja o estágio adulto desses helmintos parasitas. O fármaco de escolha para o tratamento de microfilárias por *W. bancrofti* e *B. malayi* é a DEC. A ivermectina e o albendazol também podem ser utilizados, frequentemente em combinação com a DEC. As terapias de suporte e cirurgia para a obstrução linfática podem ser de alguma ajuda estética. Educação com relação às infecções por filárias, controle dos mosquitos, uso de roupas protetoras e repelentes para insetos, bem como o tratamento das infecções para evitar transmissões posteriores, são essenciais. O controle das infecções por *B. malayi* é mais difícil devido à presença da doença em reservatórios animais.

Loa loa

Fisiologia e Estrutura

O ciclo biológico de *Loa loa* é semelhante ao ilustrado na Figura 75-15, exceto que o vetor é uma mosca hematófaga denominada *Chrysops*, a mosca da manga. Cerca de 6 meses após a infecção, inicia-se a produção de microfilárias, que pode persistir por 17 anos ou mais. Vermes adultos podem migrar através dos tecidos subcutâneos, musculatura e na frente do globo ocular.

Epidemiologia

L. loa está confinada às florestas tropicais equatoriais da África e é endêmica na África tropical ocidental, na bacia do Congo e em partes da Nigéria. Macacos dessas áreas funcionam como hospedeiros reservatórios no ciclo de vida, com as moscas da manga como vetores.

Síndromes Clínicas

Os sintomas normalmente não aparecem até 1 ano ou mais após a picada da mosca, pois os vermes atingem a fase adulta lentamente. Um dos primeiros sinais de infecção é o quadro denominado **tumores fugitivos ou de Calabar**. Esses edemas são transitórios e via de regra aparecem nas extremidades, produzidos à medida que os vermes migram através dos tecidos subcutâneos, criando áreas grandes, nodulares e que são dolorosas e pruriginosas. Devido à observação de eosinofilia (50% a 70%), acredita-se que os tumores de Calabar resultem de reações alérgicas aos vermes ou aos seus produtos metabólicos.

Vermes adultos de *L. loa* também podem migrar sob a conjuntiva, produzindo irritação, congestão dolorosa, edema das pálpebras e visão debilitada. A presença de um verme no olho pode obviamente causar ansiedade no paciente. A infecção pode ser longa e, em alguns casos, assintomática.

Diagnóstico Laboratorial

A observação clínica dos tumores de Calabar ou da migração dos vermes no olho, combinada à eosinofilia, deve alertar o médico a considerar a infecção por *L. loa*. As microfilárias podem ser encontradas no sangue (Fig. 75-19). Contrastando com as outras filárias, *L. loa* está primariamente presente durante o período diurno. Testes sorológicos também podem ser úteis para a confirmação do diagnóstico, mas não estão prontamente disponíveis.

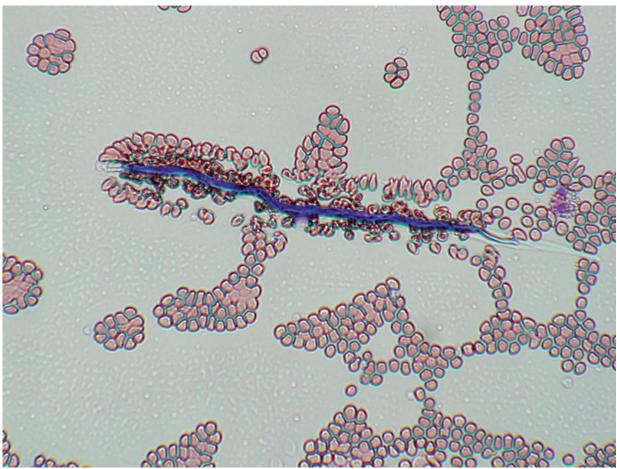


FIGURA 75-19 Coloração de Giemsa de microfilárias embainhadas de *Loa loa* em esfregaço sanguíneo; 230 a 250 µm de comprimento × 6 a 9 µm de largura.

Tratamento, Prevenção e Controle

A DEC é eficaz contra vermes adultos e microfilárias; todavia, a destruição dos parasitas pode induzir reações alérgicas graves, que requerem o tratamento com corticosteroides. Albendazol ou ivermectina (não aprovados pela Food and Drug Administration, FDA, Estados Unidos) demonstraram ser eficazes na redução das cargas de microfilária. A remoção cirúrgica de vermes migrando pelo olho ou ponte nasal pode ser realizada mediante a imobilização do verme, com instilação de algumas gotas de cocaína a 10%. A educação acerca da infecção e de seu vetor, especialmente para pessoas que vão adentrar uma área conhecidamente endêmica, é essencial. A proteção contra picadas de mosca por meio do uso de telas, roupas apropriadas e repelentes contra insetos, junto com o tratamento de casos, também é crítica na redução da incidência da infecção. Entretanto, a presença da doença em reservatórios animais (p.ex., macacos) limita a viabilidade do controle dessa doença.

Espécies de Mansonella

Infecções por filárias causadas por *Mansonella* spp. são menos importantes que as anteriormente discutidas, mas os médicos devem estar atentos aos seus nomes, pois eles podem encontrar pacientes com tais infecções. Elas são, em geral, assintomáticas, mas podem causar dermatite, linfadenite, hidrocele e, raramente, obstrução linfática resultando em elefantíase.

Todas as *Mansonella* spp. produzem microfilárias não embainhadas no sangue e tecidos subcutâneos e todas são transmitidas por dípteros hematófagos (*Culicoides* spp.) ou simulídeos (*Simulium* spp.). A ivermectina é o tratamento de escolha para *M. ozzardi* e *M. streptocerca*, ao passo que a DEC é utilizada para *M. perstans*. A identificação das espécies, se desejada, pode ser realizada por meio de esfregaços delgados de sangue, notando-se a estrutura das microfilárias (Fig. 75-18). Testes sorológicos também estão disponíveis.

A prevenção e o controle requerem medidas envolvendo repelentes para insetos, telas e outras precauções, assim como para outras doenças transmitidas por insetos.

Mansonella perstans

M. perstans ocorre principalmente nas partes da África tropical e nas Américas Central e do Sul. Ela pode produzir reações alérgicas na pele, edema e tumores de Calabar semelhantes aos da infecção por L. loa. Hospedeiros reservatórios são chimpanzés e gorilas.

Mansonella ozzardi

M. ozzardi é encontrada sobretudo nas Américas Central e do Sul e nas Antilhas. Ela pode produzir edemas dos linfonodos e ocasional hidrocele. Não existem hospedeiros reservatórios conhecidos.

Mansonella streptocerca

M. streptocerca ocorre principalmente na África, em especial na bacia do Congo. Ela pode produzir edema na pele e (raramente) uma forma de elefantíase. Macacos servem como hospedeiros reservatórios.

Onchocerca volvulus

Fisiologia e Estrutura

A infecção ocorre após a penetração de larvas de *O. volvulus* através da pele durante a picada e alimentação do vetor *Simulium* (borrachudo) (Fig. 75-20). As larvas migram da pele para o tecido subcutâneo e se desenvolvem em vermes adultos machos e fêmeas. Os adultos se tornam encapsulados em nódulos subcutâneos fibrosos, no interior dos quais permanecem viáveis por até 15 anos. A fêmea, após fecundação pelo macho, inicia a produção de até 2.000 microfilárias não embainhadas a cada dia, as quais deixam o nódulo e migram para a pele, olhos e outros tecidos do corpo. Essas microfilárias não embainhadas presentes no tecido cutâneo são infectantes para os simulídeos. É importante salientar que todos os vermes adultos e todos os estágios do ciclo biológico contêm **endossimbiontes bacterianos do gênero***Wolbachia*. Assim, é agora compreendida que a eliminação de endossimbiontes por tratamento antibacteriano bloqueia a embriogênese e fertilidade, causa inibição do desenvolvimento dos vermes e reduz a viabilidade destes. É sugerido que várias vias bioquímicas presentes em *Wolbachia*, porém ausentes ou incompletas no nematoide, incluindo biossíntese do heme, de nucleotídeos e de cofatores enzimáticos, podem ser a contribuição das bactérias para a biologia do nematoide.

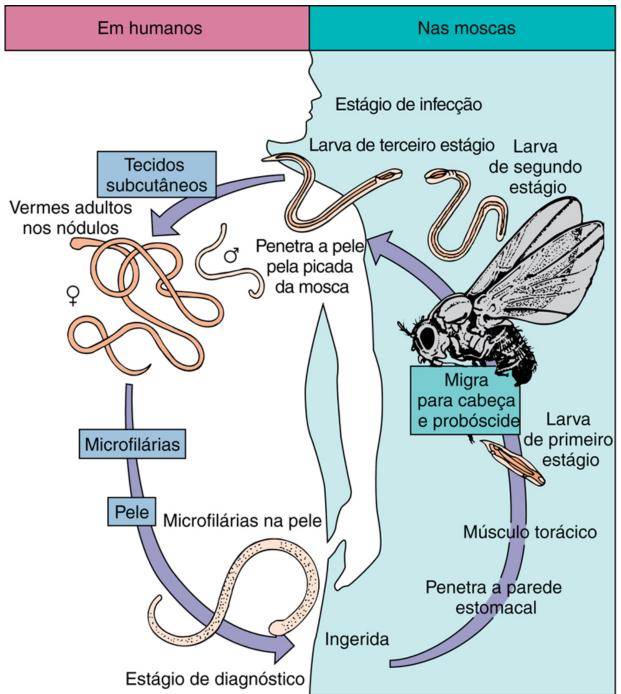


FIGURA 75-20 Ciclo biológico de Onchocerca volvulus.

Epidemiologia

Onchocerca volvulus é endêmica em muitas partes da África, especialmente nas bacias dos rios Congo e Volta. No hemisfério ocidental, ocorre em muitos países das Américas Central e do Sul. A **oncocercíase** afeta mais de 18 milhões de pessoas ao redor do mundo e causa cegueira em aproximadamente 5% dos infectados.

Diversas espécies de borrachudos do gênero *Simulium* servem como vetores, mas nenhum é tão apropriadamente denominado como o principal vetor, *Simulium damnosum* ("o borrachudo danoso"). Esses simulídeos, ou borrachudos, reproduzem-se em riachos de fluxo rápido, o que torna o controle ou erradicação com o uso de inseticidas quase impossível, pois os químicos são rapidamente lavados para longe dos ovos e larvas.

Existe uma maior prevalência da infecção em homens que em mulheres em áreas endêmicas, pois trabalham próximos ou nos riachos onde os simulídeos se reproduzem. Estudos em áreas endêmicas na África demonstraram que 50% dos homens ficam totalmente cegos antes de alcançarem 50 anos. Isso é responsável pelo termo comum de **cegueira dos rios**, que é dado à doença oncocercíase. Esse medo da cegueira criou um problema adicional em muitas partes da África, pois vilas inteiras deixam a área próxima a riachos e terras cultiváveis que poderiam produzir alimentos. As populações em migração então se encontram em áreas onde há falta de alimentos.

Síndromes Clínicas

A oncocercíase clínica é caracterizada pela infecção envolvendo a pele, tecido subcutâneo, linfonodos e olhos (Caso Clínico 75-4). As manifestações clínicas da infecção se devem à reação inflamatória aguda e crônica aos antígenos liberados pelas microfilárias, à proporção que estas migram pelos tecidos. O período de incubação entre a larva infectante e a formação do verme adulto é de vários meses a 1 ano. Os sinais iniciais da doença são febre, eosinofilia e urticária. À medida que os vermes sofrem maturação, copulam e produzem microfilárias, começam a aparecer nódulos subcutâneos em qualquer parte do corpo. Esses nódulos são mais perigosos quando estão presentes na cabeça e pescoço, pois as microfilárias podem migrar para os olhos e causar danos teciduais graves, levando à cegueira. Acredita-se que os mecanismos para o desenvolvimento da doença ocular sejam uma combinação da invasão direta pelas microfilárias e da deposição de complexos antígeno-anticorpo nos tecidos oculares. Existem evidências de que endossimbiontes bacterianos Wolbachia desempenham um importante papel na patogênese inflamatória da oncocercíase. As bactérias Wolbachia liberadas após morte microfilarial na córnea causam edema de córnea e opacidade por induzirem infiltração de neutrófilos e macrófagos e ativação no estroma da córnea. Os pacientes progridem de uma conjuntivite com fotofobia para ceratite puntiforme e esclerosante. A doença ocular interna, com uveíte anterior, coriorretinite e neurite óptica também pode ocorrer.



Caso Clínico 75-4 Oncocercíase

Imtiaz et al. (*Infect Med* 22:187-189, 2005) descreveram o caso de um homem de 21 anos, que emigrou do Sudão para os Estados Unidos 1 ano antes de apresentar um exantema maculopapular que estava associado a intenso prurido. O exantema e o prurido estiveram presentes nos últimos 3 a 4 anos. No passado, o paciente foi submetido a diversos tratamentos para essa condição, incluindo corticosteroides, sem que houvesse alívio dos sintomas. Ele negou qualquer sintoma sistêmico, mas reclamou de visão embaçada. Ao exame físico, sua pele estava de alguma forma espessada em diferentes partes do corpo, e ele apresentava lesões maculopapulares dispersas e com aumento da pigmentação; algumas lesões apresentavam nódulos queloides, bem como enrugamento. Não havia linfadenopatia e também nada digno de nota no restante de sua avaliação.

Devido à presença de prurido intenso não responsivo ao tratamento, visão embaçada e à prevalência de oncocercíase em seu país de origem, biópsias de pele foram retiradas da região subescapular. Microfilárias de *Onchocerca volvulus* foram visualizadas ao exame microscópico. Foi prescrita ivermectina, havendo melhora da condição do paciente. A oncocercíase, apesar de não ser comum nos Estados Unidos, deve ser considerada em imigrantes e expatriados com sintomas sugestivos, caso estes sejam provenientes de áreas nas quais a doença é endêmica.

Na pele, o processo inflamatório resulta em perda da elasticidade e áreas de despigmentação, espessamento e atrofia. Uma grande variedade de condições de pele, incluindo prurido, hiperceratose e espessamento mixedematoso, está relacionada com a presença desse parasita. Uma forma de elefantíase denominada **virilha pendente** também ocorre quando os nódulos estão localizados próximos à genitália.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de oncocercíase é realizado pela demonstração de microfilárias em preparações de biópsias de pele a partir da região infraescapular ou glútea. Uma amostra é obtida mediante elevação da pele com uma agulha e da raspagem da camada epidérmica com uma lâmina cortante. A amostra é incubada em salina por várias horas e é então inspecionada com o uso de um microscópio de dissecção, em busca de microfilárias não embainhadas (Fig. 75-21). Em pacientes com doença ocular, o organismo também pode ser visualizado na câmara anterior com a ajuda de uma lâmpada de fenda. Métodos sorológicos utilizando antígenos recombinantes têm sido úteis, assim como ensaios utilizando reação em cadeia da polimerase para detectar ácido desoxirribonucleico (DNA) de oncocercas em amostras de biópsia de pele.



FIGURA 75-21 Coloração de Giemsa de microfilária não embainhada de *Onchocerca volvulus*; 300 a 315 μ m de comprimento \times 5 a 9 μ m de largura.

Tratamento, Prevenção e Controle

A remoção cirúrgica do nódulo encapsulado é frequentemente realizada para eliminar os vermes adultos e cessar a produção de microfilárias (Fig. 75-22). Além disso, o tratamento com ivermectina é recomendado. Uma única dose oral de ivermectina (150 mg/kg) reduz grandemente o número de microfilárias na pele e nos olhos, diminuindo, portanto, a probabilidade do desenvolvimento de uma oncocercíase incapacitante. Em áreas endêmicas, a dose de ivermectina pode ser repetida a cada 6 a 12 meses para manter a supressão de microfilárias dérmicas e oculares. A supressão de microfilárias dérmicas reduz a transmissão dessa doença, que é de caráter vetorial, e, portanto, a quimioterapia em massa pode ser uma estratégia de sucesso para a prevenção da oncocercíase. No momento, não há evidência concreta de que *O. volvulus* esteja se tornando resistente à ivermectina; entretanto, sempre que um único agente é utilizado para o controle de uma doença, com doses variadas e durante um longo período, é prudente estar atento para a possibilidade de desenvolvimento de resistência. Trabalhos de campo com fármacos anti-*Wolbachia*, tais como doxiciclina, têm demonstrado ambas as atividades, esterilizante e macrofilaricida. Com base nesses estudos, doxiciclina na dose 200 mg/dia por 6 semanas é recomendada em pacientes para os quais é necessária uma alta atividade macrofilaricida e que foram retirados de áreas de transmissão.

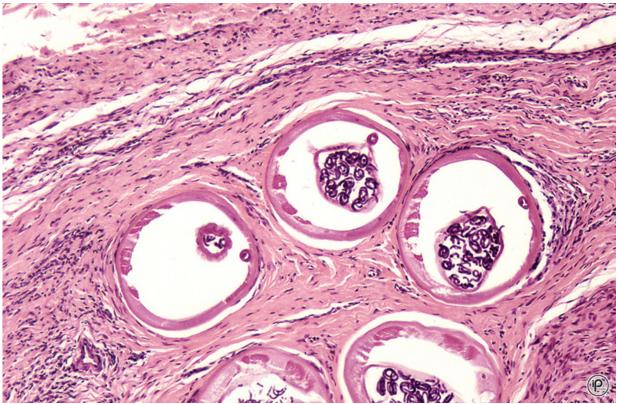


FIGURA 75-22 Corte transversal de um verme adulto fêmea de *Onchocerca volvulus* em um nódulo excisado mostrando numerosas microfilárias.

A educação em relação à doença e sua transmissão é essencial. A proteção contra picadas de simulídeos por meio do uso de roupas protetoras, telas e repelentes contra insetos, assim como o diagnóstico e tratamento imediato de infecções para evitar futuras transmissões, é crítica.

Apesar de o controle da reprodução dos simulídeos ser difícil uma vez que os inseticidas são lavados nos riachos, alguma forma de controle biológico desse vetor pode reduzir a reprodução dos simulídeos e a transmissão da doença.

Dirofilaria immitis

Diversas filárias transmitidas por mosquitos infectam cães, gatos, guaxinins e linces na natureza e ocasionalmente são encontradas em humanos. *Dirofilaria immitis*, o **verme do coração dos cães**, é notória por formar um bolo letal de vermes no coração desses animais. Esse nematoide também pode infectar humanos, produzindo um nódulo denominado **lesão em moeda**, no pulmão. Muito raramente, esses vermes foram encontrados em corações humanos.

A lesão em moeda no pulmão representa um problema para o radiologista e o cirurgião, pois se assemelha a uma malignidade que requer remoção cirúrgica. Infelizmente, nenhum teste laboratorial pode proporcionar um diagnóstico preciso da **dirofilaríase**. A eosinofilia periférica é rara, e as características radiográficas são insuficientes para permitir que o clínico distinga a dirofilaríase pulmonar de um carcinoma broncogênico. Testes sorológicos não são suficientemente sensíveis ou específicos para impedir a intervenção cirúrgica. Um diagnóstico definitivo é feito quando uma amostra proveniente de toracotomia é examinada microscopicamente, revelando os cortes transversais típicos do parasita.

A transmissão das infecções por filárias pode ser diminuída por meio do controle dos mosquitos e do uso profilático de ivermectina em cães.

Dracunculus medinensis

O nome *Dracunculus medinensis* significa "pequeno dragão de Medina". Essa é uma infecção por vermes bastante antiga e alguns estudiosos acreditam que seja a "serpente de fogo" notada por Moisés com os Israelitas no Mar Vermelho.

Fisiologia e Estrutura

Dracunculus medinensis não é um filarídeo, mas sim um nematoide com capacidade de invadir tecidos e de importância médica em muitas partes do mundo. Os vermes têm um ciclo de vida bastante simples, dependendo de água doce e microcrustáceos (**copépodes**) do gênero *Cyclops* (Fig. 75-23). Quando *Cyclops* spp. abrigando larvas de *D. medinensis* são ingeridas em água de beber, a infecção é iniciada com a liberação das larvas no estômago. Essas larvas penetram na parede do trato digestivo e migram para o espaço retroperitoneal, onde sofrem maturação. Elas não são microfilárias e não aparecem no sangue ou outros tecidos. Vermes machos e fêmeas copulam no retroperitônio, e a fêmea fecundada então migra para os tecidos subcutâneos, normalmente nas extremidades. Quando a fêmea fecundada se torna gravídica, uma

vesícula é formada no tecido do hospedeiro, que vai ulcerar. Quando a úlcera estiver completamente formada, o verme projeta uma alça do útero através da úlcera. Em contato com a água, as formas larvares do verme são liberadas. As larvas são então ingeridas por *Cyclops* spp. em água doce, onde são então infectantes para humanos ou animais que vão ingerir a água contendo as *Cyclops* spp.

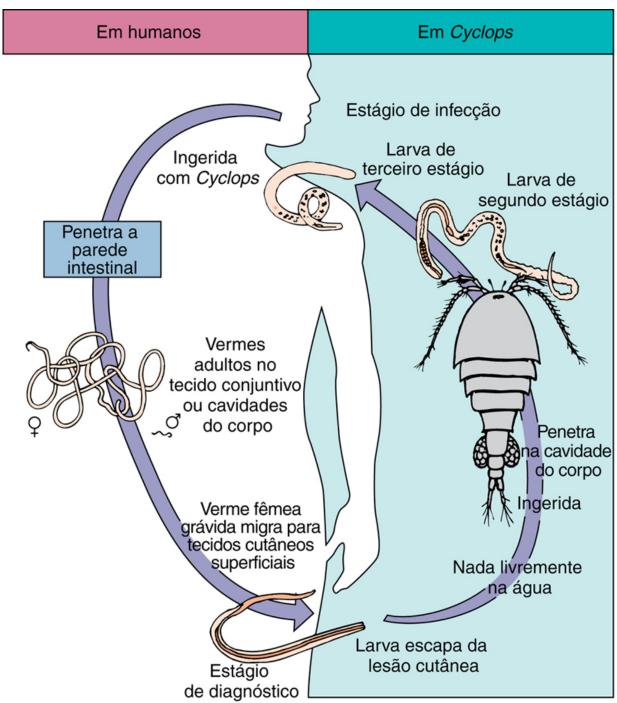


FIGURA 75-23 Ciclo biológico de Dracunculus medinensis.

Epidemiologia

D. medinensis ocorre em muitas partes da Ásia e África equatorial, infectando uma estimativa de 10 milhões de pessoas. Hospedeiros reservatórios incluem cães e muitos animais peludos, que entram em contato com água contendo espécies infectantes de *Cyclops* spp.

As infecções humanas normalmente resultam da ingestão de água dos denominados "poços em degraus", onde pessoas ficam em pé ou se banham, durante a qual a fêmea gravídica libera larvas, a partir das lesões nos braços, pernas, pés e tornozelos, para infectar *Cyclops* spp. presentes na água. Águas de poços e águas paradas são ocasionalmente a fonte de infecção quando humanos as utilizam como água para ingestão.

Síndromes Clínicas

Os sintomas da infecção via de regra não aparecem até que a fêmea gravídica crie a vesícula e a úlcera na pele para a liberação das formas larvares. Isso ocorre normalmente 1 ano após a exposição inicial. No local da úlcera, há eritema e dor, assim como uma reação alérgica ao verme. Também existe a possibilidade de formação de abscesso e infecção bacteriana secundária, levando, posteriormente, à destruição tecidual e à reação inflamatória, com dor intensa e descamação da pele.

Se o verme for rompido na tentativa de remoção, podem ocorrer reações tóxicas; e se ele morrer e calcificar-se, pode haver formação de nódulos e alguma reação alérgica. Uma vez tendo liberado todas as larvas, a fêmea do verme pode se retrair para tecidos mais profundos, onde é gradualmente absorvida, ou pode apenas ser expelida do local.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é estabelecido por meio da observação da úlcera típica e da lavagem da úlcera com água para recuperar as larvas do verme quando são liberadas. Ocasionalmente, exames radiográficos revelam vermes em várias partes do corpo.

Tratamento, Prevenção e Controle

O método antigo de enrolar lentamente o verme em um palito ainda é utilizado em muitas áreas endêmicas (Fig. 75-24). A remoção cirúrgica também é um procedimento prático e confiável para o paciente. Não existem evidências de que qualquer agente quimioterápico tenha efeito direto no *D. medinensis*, apesar de vários benzimidazóis poderem ter efeito anti-inflamatório e poderem ou eliminar o verme ou tornar a remoção cirúrgica fácil. O tratamento com mebendazol tem sido associado à migração aberrante dos vermes, tendo como resultado uma maior propensão dos vermes a emergirem em locais anatômicos diferentes dos membros inferiores.

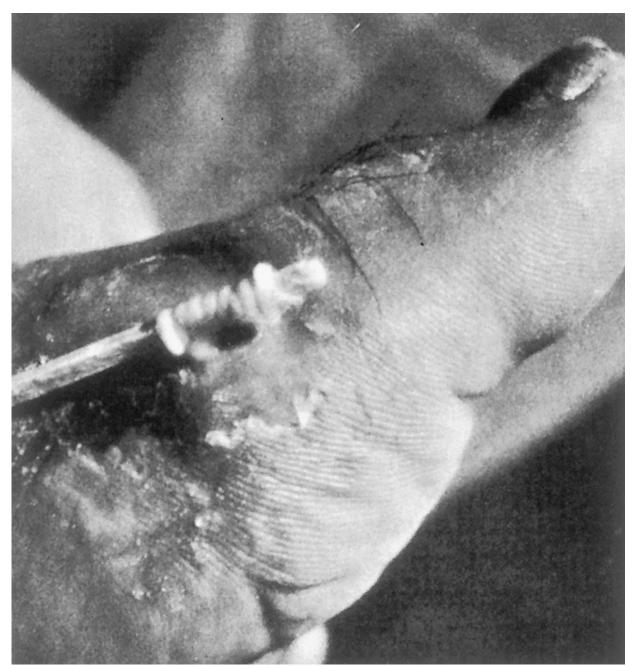


FIGURA 75-24 Remoção de um verme adulto de *Dracunculus medinensis* de uma úlcera exposta enrolando-se o verme em torno de um bastão. (De Binford CH, Conner DH: *Pathology of tropical and extraordinary diseases*, Washington, DC, 1976, Armed Forces Institute of Pathology.)

A educação acerca do ciclo biológico do verme e de se evitar água contaminada por *Cyclops* spp. é crítica. Proteção da água para ingestão por meio da proibição de banhos e lavagem de roupas em poços é essencial. Pessoas que vivem ou viajam para áreas endêmicas devem ferver a água antes de ingeri-la. O tratamento da água com químicos e o uso de peixes que consomem *Cyclops* spp. como alimento também ajudam a controlar a transmissão. O diagnóstico e tratamento imediato dos casos também limitam posteriores transmissões. Essas medidas preventivas foram incorporadas em um esforço global em andamento para eliminar a dracunculíase, obtendo sucesso expressivo. A incidência anual da doença mundial foi reduzida em 98%, com completa erradicação em sete países.

Referências Bibliográficas

Barry M. The tail end of guinea worm - global eradication without a drug or a vaccine. N Engl J Med. 2007;356:2561-2564.

Despommier D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16:265–272. Fink DL, Nutman TB. Filarial nematodes. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. ed 5 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2005.

Gavin PJ, Kazacos KR, Shulman ST. Baylisascariasis. Clin Microbiol Rev. 2005;18:703-718.

Gottstein B, Pozio E, Nockler K. Epidemiology, treatment, and control of trichinellosis. Clin Microbiol Rev. 2009;22:127–145.

Hotez PJ, Brooker S, Bethony JM, et al. Hookworm infection. N Engl J Med. 2004;351:799-807.

Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, et al. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. J Clin Invest. 2008;118:1311–1321.

- James CE, Hudson AL, Davey MW. Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest?. *Trends Parasitol*. 2009;25:328–335.
- Keiser PB, Nutman TB. Strongyloides stercoralis in the immunocompromised population. Clin Microbiol Rev. 2004;17:208–217.
- Procop GW, Neafie RC. Less common helminths. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.
- Sheorey H, Biggs BA, Traynor P. Nematodes. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.
- Tamarozzi F, Halliday A, Gentil K, et al. Onchocerciasis: the role of *Wolbachia* bacterial endosymbionts in parasite biology, disease pathogenesis, and treatment. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24:459–468.

CAPÍTULO 76

Trematódeos

Um homem egípcio de 45 anos foi encaminhado para avaliação de hematúria e frequência urinária de 2 meses de duração. O indivíduo morou no Oriente Médio na maior parte da sua vida, mas desde o ano passado vive nos Estados Unidos. Ele negou problemas renais ou urológicos anteriores. No exame físico, nada foi constatado. Uma amostra de jato médio de urina apresentou-se grosseiramente sanguinolenta.

- 1. Qual foi o diagnóstico diferencial de hematúria para esse paciente?
- 2. Qual foi o agente etiológico causador do processo urológico nesse paciente?
- 3. Quais exposições podem colocar um indivíduo em risco para essa infecção?
- 4. Quais as principais complicações dessa infecção?
- 5. Como essa doença é tratada?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Fasciolopsis buski

Palavras-gatilho

Vegetação aquática, hospedeiro intermediário, caramujo, trematódeo, opérculo, cercária, metacercária, hospedeiros reservatórios

Biologia, Virulência e Doença

- Trematódeos (parasitas intestinais): membros dos Platelmintos; habitualmente são vermes achatados, carnudos, em forma de folha
- Fasciolopsis buski: constitui o maior, mais prevalente e o mais importante trematódeo; desde 1,5 a 3,0 cm de comprimento (raras vezes encontrado em fezes ou amostras recolhidas durante uma intervenção cirúrgica)
- Ciclo de vida típico de parasitas intestinais
- A sintomatologia da infecção por *F. buski* relaciona-se diretamente com a carga de vermes no intestino delgado; inclui inflamação da mucosa, ulceração e hemorragia, desconforto abdominal e diarreia, obstrução intestinal, eosinofilia

Epidemiologia

- A distribuição depende da localização do hospedeiro caramujo apropriado; mais prevalente no sudeste da Ásia e subcontinente Indiano
- Porcos, cães, coelhos servem como hospedeiros reservatórios em regiões endêmicas

Diagnóstico

- O exame microscópico de fezes revela ovos grandes, de tom dourado, corados pela bílis, com um opérculo no topo
- Os vermes adultos podem ser raramente encontrados nas fezes ou em amostras recolhidas durante uma intervenção cirúrgica

Tratamento, Prevenção e Controle

- Fármaco de eleição: praziquantel; uma alternativa é a niclosamida
- A educação visando o consumo seguro de vegetação aquática infecciosa, saneamento apropriado e o controle de fezes humanas reduz a incidência da doença
- A população de caramujos pode ser eliminada com moluscicida
- O controle dos hospedeiros reservatórios reduz a transmissão dos vermes

Esquistossomos e Esquistossomose

Palavras-gatilho

Caramujos, câncer da bexiga, cirrose, fibrose em haste de cachimbo de barro, síndrome de Katayama, prurido do nadador

Biologia, Virulência e Doença

- Esquistossomose (bilharziose, febre do caramujo): infecção parasitária principal em áreas tropicais, ≈ 200 milhões de infecções em todo o mundo
- Três esquistossomos (trematódeos sanguíneos) são responsáveis pela maioria das doenças humanas: *Schistosoma mansoni, Schistosoma haematobium, Schistosoma japonicum*
- Os esquistossomos diferem de outros trematódeos: sexo masculino e feminino (não hermafroditas), ventosa oral e ventral, sistema digestivo incompleto
- As formas infecciosas são cercárias que penetram a pele, e liberadas a partir dos caramujos
- A doença resulta primariamente da resposta imune do hospedeiro aos ovos; significado clínico diretamente relacionado com o número e localização dos ovos
- Manifestações clínicas de infecção crônica: hepatosplenomegalia e cirrose, varizes esofágicas, obstrução do colo da bexiga, carcinoma da bexiga de células escamosas, mielite transversa e outras formas de envolvimento do SNC

Epidemiologia

- *S. mansoni:* distribuição vasta; endêmico na África, Arábia Saudita, Madagascar; a infecção também se encontra estabelecida no Hemisfério Ocidental
- *S. japonicum* (trematódeo sanguíneo oriental): apenas encontrado na China, Japão, Filipinas e na ilha de Sulawesi, na Indonésia
- S. haematobium: ocorre predominantemente através do Vale do Nilo e em muitas outras partes da África
- Infecção adquirida inicialmente na infância precoce; prevalência e intensidade da infecção atingem o seu pico entre os 15–20 anos; a intensidade diminui com a idade
- Os hospedeiros reservatórios incluem os animais domésticos, primatas, roedores, marsupiais
- Doença do progresso econômico: os desenvolvimentos de projetos de irrigação da terra em áreas tropicais e desérticas resultaram na dispersão dos humanos infectados e caramujos para áreas previamente não envolvidas

Diagnóstico

- Demonstração dos ovos nas fezes ou urina do paciente no exame microscópio
- Morfologia dos ovos específica para cada: *S. mansoni* espinha lateral proeminente, *S. japonicum* espinha menos proeminente, *S. haematobium* espinha terminal
- Os testes sorológicos foram desenvolvidos para detectar a presença de anticorpos anti-esquissostomas específicos; a sorologia positiva não distingue entre a infecção atual e antiga
- Imagem por ecografia útil na determinação da extensão da doença

Tratamento, Prevenção e Controle

- Tratamento de eleição: praziquantel
- A melhoria do saneamento, o controle de depósitos de fezes humanas e o controle do hospedeiro reservatório são essenciais

Os **trematódeos** são membros do filo *Platyhelminthes* e são geralmente vermes achatados, carnudos e em forma de folha (Fig. 76-1). Em geral, são equipados com duas ventosas musculares: um tipo oral, que é o início de um sistema digestivo incompleto; e uma ventosa ventral, que é simplesmente um órgão de fixação. O sistema digestivo consiste em tubos laterais que não se unem para formar uma abertura excretória. A maioria dos trematódeos é **hermafrodita**, com ambos os órgãos reprodutivos, femininos e masculinos, em um único corpo. Os esquistossomos são a única exceção; eles possuem corpos cilíndricos (como os nematoides), e existem vermes machos e fêmeas.



FIGURA 76-1 Verme adulto de Fasciolopsis buski (tamanho natural). (De Peters W, Pasvol G: Atlas of tropical medicine and parasitology, ed 6, Philadelphia, 2007, Elsevier.)

Todos os trematódeos requerem hospedeiros intermediários para completar seu ciclo de vida e, sem exceção, os primeiros hospedeiros intermediários são moluscos (caramujos e mariscos). Nesses hospedeiros, o ciclo de reprodução assexuada é um tipo de propagação por célula germinativa. Alguns trematódeos necessitam de diversos segundos hospedeiros intermediários antes de alcançar o hospedeiro final e se desenvolverem em vermes adultos. Essa variação é discutida nas seções individuais sobre cada espécie.

Os ovos dos trematódeos são equipados com uma "tampa" no topo da casca. Denominada **opérculo**, a tampa se abre para permitir que a forma larvar do verme encontre seu hospedeiro molusco apropriado. Os esquistossomos não possuem opérculo; em vez disso, a casca do ovo se parte para liberar a larva. Os trematódeos de importância médica estão resumidos na Tabela 76-1.



Tabela 76-1

Trematódeos de Importância Médica

Trematódeo	Nome Comum	Hospedeiro Intermediário	Vetor Biológico	Hospedeiro Reservatório
Fasciolopsis buski	Trematódeo intestinal gigante	Caramujo	Plantas aquáticas (p.ex., castanha aquática)	Suínos, cães, coelhos, humanos
Fasciola hepatica	Trematódeo hepático de ovinos	Caramujo	Plantas aquáticas (p.ex., agrião)	Ovinos, bovinos, humanos
Clonorchis (Opisthorchis) sinensis	Trematódeo hepático chinês	Caramujo, peixes de água doce	Peixe cru	Cães, gatos, humanos
Paragonimus westermani	Trematódeo pulmonar	Caramujo, caranguejos e lagostim de água doce	Caranguejos e lagostins crus	Suínos, macacos, humanos
Schistosoma spp.	Trematódeo sanguíneo	Caramujo	Nenhum	Primatas, roedores, animais domésticos, gado, humanos

Fasciolopsis buski

Um grande número de trematódeos intestinais é reconhecido, incluindo *Fasciolopis buski* (Fig. 76-1), *Heterophyes heterophyes*, *Metagonimus yokogawai*, *Echinostoma ilocanum* e *Gastrodiscoides hominis*. *F. buski* é o maior, mais prevalente e mais importante trematódeo intestinal. Os outros trematódeos são semelhantes a *F. buski* em muitos aspectos (epidemiologia, síndromes clínicas, tratamento) e não serão discutidos posteriormente. É importante apenas que os médicos reconheçam a relação entre esses diferentes trematódeos.

Fisiologia e Estrutura

Esse grande trematódeo intestinal apresenta um ciclo de vida típico (Fig. 76-2). Humanos ingerem o estágio larvar encistado (metacercária) quando descascam a vegetação aquática (p.ex., castanha aquática) com os dentes. As metacercárias são removidas da casca, deglutidas e se desenvolvem em trematódeos imaturos no duodeno. O trematódeo se fixa à mucosa do intestino delgado por meio de duas ventosas musculares, desenvolve-se até a forma adulta e sofre autofecundação. A produção de ovos é iniciada 3 meses após a infecção inicial com metacercárias. Os ovos operculados são eliminados nas fezes para a água, onde o opérculo no topo da casca do ovo se abre, liberando um estágio larvar que nada livremente (miracídio). Glândulas localizadas na porção pontiaguda anterior do miracídio produzem substâncias líticas que permitem a penetração nos tecidos moles dos caramujos. No tecido do molusco, o miracídio se desenvolve através de uma série de estágios, por meio de reprodução assexuada do tipo propagação por célula germinativa. O estágio final (cercária) no caramujo é uma forma capaz de nadar livremente que, após a liberação a partir do caramujo, encista-se na vegetação aquática, tornando-se a metacercária, ou estágio infectante.

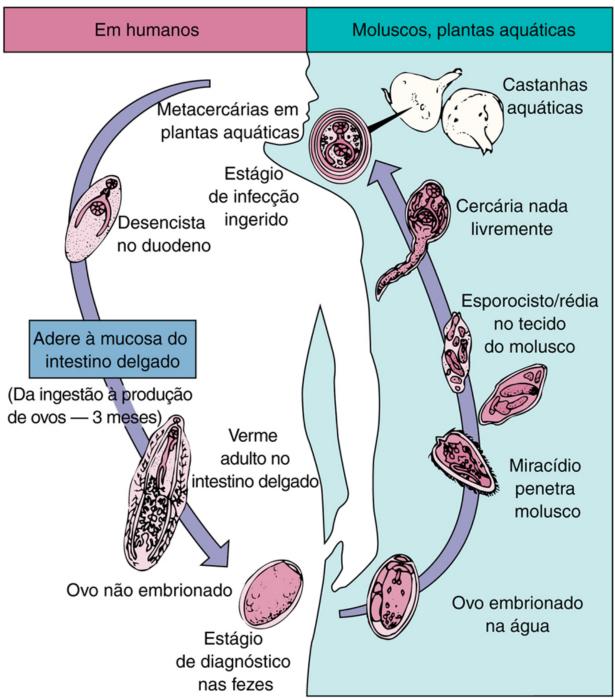


FIGURA 76-2 Ciclo biológico de Fasciolopis buski (trematódeo intestinal gigante).

Devido ao fato de depender da distribuição de seu hospedeiro caramujo apropriado, *F. buski* é encontrado apenas na China, Vietnã, Tailândia, partes da Indonésia, Malásia e Índia. Suínos, cães e coelhos servem como hospedeiros reservatórios nestas áreas endêmicas.

Síndromes Clínicas

A sintomatologia da infecção por *F. buski* está diretamente relacionada com a carga parasitária no intestino delgado. A fixação dos trematódeos no intestino delgado pode produzir inflamação, ulceração e hemorragia. Infecções graves produzem desconforto abdominal semelhante ao de uma úlcera duodenal, com diarreia. As fezes podem estar abundantes, é comum a ocorrência de uma síndrome de má absorção semelhante à giardíase, podendo ocorrer obstrução intestinal. Acentuada eosinofilia também está presente. Apesar de poder ocorrer a morte, ela é rara.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitalógico das fezes revela ovos grandes, dourados, corados pela bile e com opérculo em um dos polos (Fig. 76-3). As medidas e aparência dos ovos de *F. buski* são semelhantes às do trematódeo hepático *Fasciola hepatica*, e a

diferenciação dos ovos dessas espécies via de regra não é possível. Trematódeos adultos grandes (≈ 1,5 a 3,0 cm) (Fig. 76-1) podem raramente ser encontrados nas fezes ou nos espécimes coletados durante cirurgia.

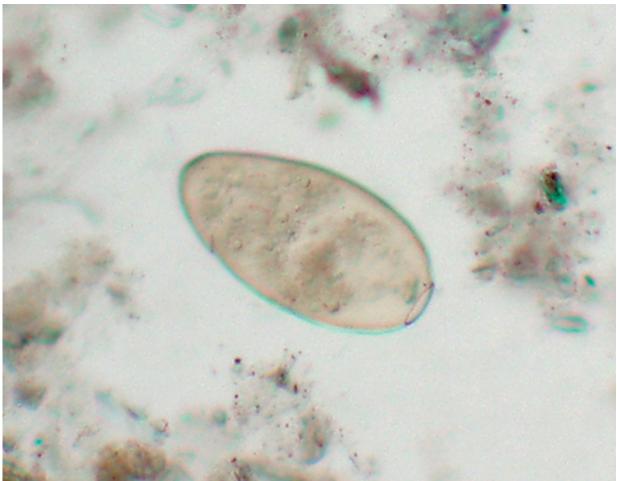


FIGURA 76-3 Ovo de *Fasciolopis buski*, 130 a 150 μm de comprimento × 65 a 90 μm de largura, com um opérculo em uma extremidade.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel, e a alternativa é a niclosamida. A educação acerca do consumo seguro de vegetação aquática infectante (particularmente castanhas aquáticas), do saneamento adequado e do controle das fezes humanas reduz a incidência da doença. Além disso, a população de caramujos pode ser eliminada com moluscicidas. Quando a infecção ocorrer, o tratamento deve ser iniciado prontamente para minimizar sua dispersão. O controle dos hospedeiros reservatórios também reduz a transmissão do verme.

Fasciola hepatica

Um grande número de trematódeos hepáticos é reconhecido, incluindo *F. hepatica, Clonorchis sinensis, Opisthorchis felineus* e *Dicrocoelium dendriticum*. Apenas *F. hepatica* e *C. sinensis* são discutidos neste capítulo, embora os ovos dos outros trematódeos sejam detectados de modo ocasional nas fezes dos pacientes em outras áreas geográficas.

Fisiologia e Estrutura

Comumente denominado **trematódeo hepático da ovelha**, *F. hepatica* é um parasita de herbívoros (particularmente ovelhas e bovinos) e humanos. Seu ciclo de vida (Fig. 76-4) é semelhante ao de *F. buski*, sendo a infecção humana o resultado da ingestão de agrião, que alberga a metacercária encistada. As formas larvares do trematódeo então migram através da parede duodenal e pela cavidade peritoneal, penetram na cápsula hepática, atravessam o parênquima hepático e penetram nos ductos biliares para se tornarem vermes adultos. Cerca de 3 a 4 meses após a infecção inicial, os trematódeos adultos iniciam a produção de ovos operculados, que são idênticos aos de *F. buski*, quando visualizados em exames de fezes.

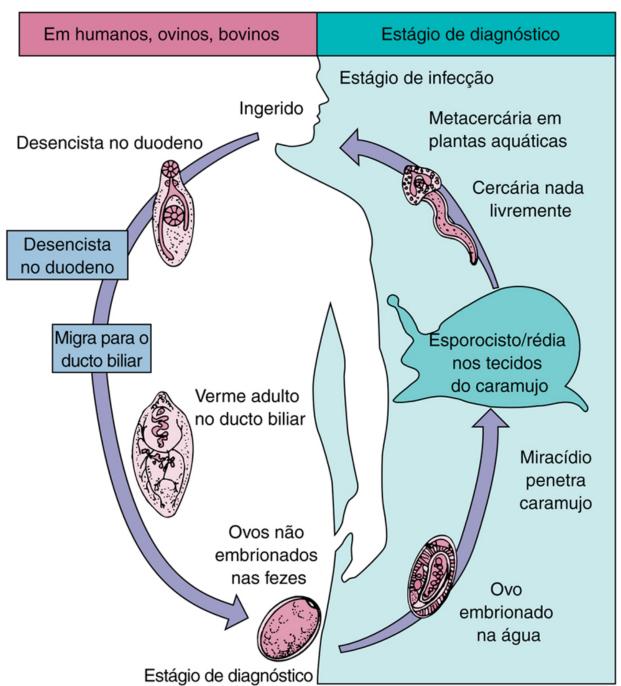


FIGURA 76-4 Ciclo biológico de Fasciola hepatica (trematódeo do figado de ovinos).

Infecções foram relatadas mundialmente em áreas de criação de ovelhas, que possuem o caramujo apropriado como hospedeiro intermediário. Essas áreas incluem a antiga União Soviética, Japão, Egito e muitos países da América Latina. As epidemias estão diretamente relacionadas com o consumo humano de agrião contaminado em áreas onde herbívoros infectados estejam presentes. A infecção humana é rara nos Estados Unidos, mas vários casos bem documentados já foram relatados em viajantes provenientes de áreas endêmicas.

Síndromes Clínicas

A migração da forma larvar do verme pelo fígado produz irritação desse tecido, sensibilidade e hepatomegalia. Dor no quadrante superior direito, calafrios, febre e marcada eosinofilia são comumente observados. À medida que os vermes se alojam nos ductos biliares, sua irritação mecânica e secreções tóxicas produzem hepatite, hiperplasia do epitélio e obstrução biliar (Caso Clínico 76-1). Alguns vermes penetram em áreas de erosão nos ductos e invadem o fígado para produzir focos necróticos referidos como **fígado podre**. Em infecções graves, infecção bacteriana secundária pode ocorrer, e a cirrose portal é comum.

Echenique-Elizondo et al. (*JOP* 6:36-39, 2005) descreveram o caso de pancreatite aguda devido ao trematódeo hepático *Fasciola hepática*. O paciente era uma mulher de 31 anos que foi internada no hospital devido ao início súbito de náuseas e dor na região abdominal superior. Fora isso, ela se encontrava saudável e forneceu uma história negativa de abuso de drogas, ingestão de álcool, doença de cálculos na vesícula, trauma abdominal ou cirurgia. Ao exame físico, ela estava marcadamente sensível na região epigástrica e apresentava sons intestinais hipoativos. A bioquímica sérica demonstrou elevação das enzimas pancreáticas (amilase, lipase, fosfolipase A2 pancreática e elastase). A contagem de leucócitos estava elevada, assim como testes para fosfatase alcalina e bilirrubina. Nitrogênio ureico sanguíneo, creatinina, LDH e cálcio estavam com níveis séricos normais. Ultrassonografia e TC abdominal demonstraram aumento difuso do pâncreas, e um colangiograma demonstrou dilatação e diversos defeitos de preenchimento nos ductos biliares comuns. Uma esfincterotomia endoscópica foi realizada, com a extração de numerosos trematódeos grandes que foram identificados como sendo *F. hepatica*. A paciente foi tratada com uma dose oral única de triclabendazol (10 mg/kg). O acompanhamento demonstrou bioquímica sérica normal e nenhuma evidência da doença 2 anos após o procedimento.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela ovos operculados indistinguíveis dos ovos de *F. buski* (Fig. 76-3). A identificação exata é um problema terapêutico, pois o tratamento não é o mesmo para ambas as infecções. *F. buski* responde favoravelmente ao praziquantel, mas *F. hepatica* não. Quando a identificação exata é desejada, o exame de uma amostra da bile do paciente diferencia as espécies; se os ovos estiverem presentes na bile, eles são de *F. hepatica*, e não de *F. buski*, que está limitado ao intestino delgado. Os ovos podem aparecer nas amostras de fezes de pessoas que tenham ingerido fígado infectado de ovelha ou gado. A natureza artificial desse achado pode ser confirmada solicitando-se que o paciente se abstenha de ingerir fígado e então faça novo exame de fezes.

Tratamento, Prevenção e Controle

Em contraste com *F. buski, F. hepatica* responde mal ao praziquantel. O tratamento com bitionol ou com o componente benzimidazol triclabendazol tem sido eficaz. Medidas preventivas são semelhantes àquelas para o controle de *F. buski;* pessoas que moram em áreas frequentadas por ovelhas ou bovinos devem especialmente evitar a ingestão de agrião e outras vegetações aquáticas não cozidas.

Clonorchis sinensis

Fisiologia e Estrutura

C. sinensis, também citado como Opisthorchis sinensis na literatura antiga, é comumente denominado **trematódeo hepático chinês**. A Figura 76-5 ilustra seu ciclo de vida, que envolve dois hospedeiros intermediários. Esse trematódeo difere dos outros ciclos de trematódeos, pois os ovos são ingeridos pelo caramujo, e a reprodução então inicia-se nos tecidos moles do molusco. C. sinensis também necessita de um segundo hospedeiro intermediário, peixes de água doce, nos quais a cercária se encista e se desenvolve em metacercária infectante. Quando o peixe de água doce, albergando a metacercária, é ingerido cru, os trematódeos se desenvolvem primeiramente no duodeno e então migram para os ductos biliares, onde se tornam adultos. Os trematódeos adultos sofrem autofecundação e iniciam a produção de ovos. C. sinensis pode sobreviver no trato biliar por até 50 anos, produzindo em torno de 2.000 ovos por dia. Esses ovos são eliminados nas fezes e são novamente ingeridos por caramujos, reiniciando o ciclo.

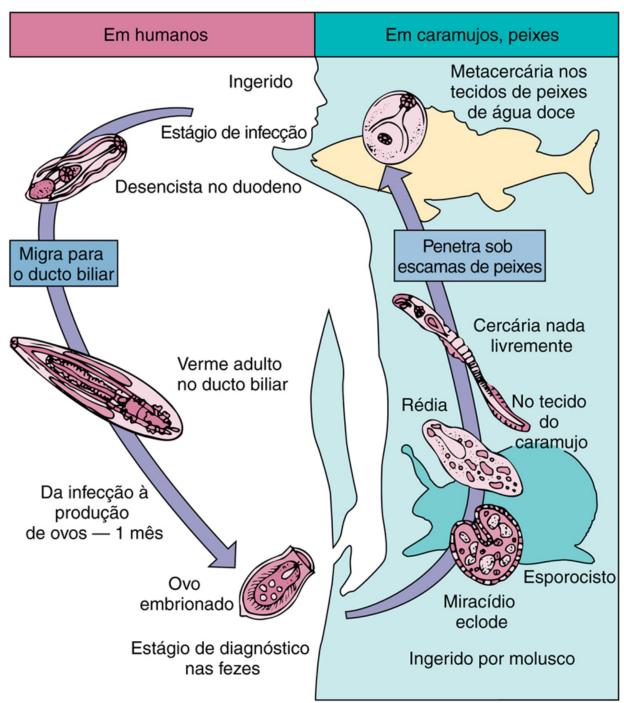


FIGURA 76-5 Ciclo biológico de Clonorchis sinensis (trematódeo hepático chinês).

C. sinensis é encontrado na China, Japão, Coreia e Vietnã, onde se estima que infecte aproximadamente 19 milhões de pessoas. É uma das infecções mais frequentes entre refugiados asiáticos e pode ser atribuída ao consumo de peixes de água doce crus, em conserva, defumados, ou secos, que albergam as metacercárias viáveis. Cães, gatos e mamíferos que se alimentam de peixe também podem servir como hospedeiros reservatórios.

Síndromes Clínicas (Caso Clínico 76-2)

A infecção em humanos é normalmente branda e assintomática. Infecções graves por muitos trematódeos nos ductos biliares produzem febre, diarreia, dor epigástrica, hepatomegalia, anorexia e, de maneira ocasional, icterícia. Pode ocorrer obstrução biliar, e a infecção crônica pode resultar em adenocarcinoma dos ductos biliares. A invasão da vesícula biliar pode produzir colecistite, colelitíase e insuficiência hepática, assim como abscessos hepáticos.



Caso Clínico 76-2 Colangite Causada por Clonorchis (Opisthorchis) sinensis

rigores. Ela havia emigrado da Ásia para a Irlanda 18 meses antes e forneceu uma história de dor abdominal superior intermitente ocorrendo em um período de 3 anos. Ao exame, ela parecia agudamente doente e se queixava ao toque. Estava febril, taquicárdica e apresentava icterícia esclerótica branda. Seu abdome estava macio, com renitência no quadrante superior direito. Estudos hematológicos e bioquímicos de rotina revelaram uma marcada leucocitose e testes de função hepática obstrutivos. Uma TC do abdome, realçada por contraste, demonstrou evidência de múltiplas opacidades ovoides no interior de ductos biliares intra-hepáticos dilatados, localizados no lobo direito do fígado. O restante do parênquima hepático aparentava estar normal. Após estabilização da paciente, uma colangiopancreatografia endoscópica retrógrada (CPER) foi realizada para descompressão biliar. A CPER demonstrou dilatação dos ductos biliares intra-hepáticos e extra-hepáticos, com múltiplos defeitos de preenchimento e constrições. Uma amostra de fezes enviada para análise confirmou a presença de ovos e adultos de *Clonorchis* (*Opisthorchis*) sinensis. Houve recuperação da paciente com manejo médico (praziquantel), e amostras de fezes negativas estavam presentes 30 dias após o tratamento. Este caso, como o Caso Clínico 75-1, demonstra as várias complicações da infecção por trematódeo hepático. Notavelmente, o praziquantel é o fármaco de escolha para o tratamento do trematódeo hepático oriental (*C. sinensis*), enquanto o triclabendazol é utilizado para o tratamento de fasciolíase, enfatizando a importância de uma história epidemiológica e identificação do trematódeo.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é feito por meio da recuperação de ovos distintos nas fezes. Os ovos medem de 27 a 35 µm × 12 a 19 µm e são caracterizados por um distinto opérculo com "ombros" proeminentes e uma pequena protuberância no polo posterior (abopercular) (Fig. 76-6). Em infecções brandas, podem ser necessários exames repetidos das fezes ou aspirados duodenais. Em infecções sintomáticas agudas, por via de regra existe eosinofilia e elevação dos níveis séricos de fosfatase alcalina. Procedimentos de imagem radiográfica podem detectar anormalidades do trato biliar.



FIGURA 76-6 Ovo de *Clonorchis sinensis* (*seta*). Esses ovos ovoides são pequenos (27 a 35 μm de comprimento × 12 a 19 μm de largura) e têm uma casca espessa e castanho-amarelada com um proeminente opérculo em uma extremidade e uma pequena saliência na outra. (De CDC Public Health Image Library.)

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel. A prevenção da infecção é feita pela não ingestão de peixes crus e implementação de políticas de saneamento adequadas, incluindo o descarte de fezes humanas, caninas e felinas em locais adequadamente protegidos, de forma que elas não possam contaminar abastecimentos de água onde residem os hospedeiros intermediários moluscos e peixes.

Paragonimus westermani

Fisiologia e Estrutura

Paragonimus westermani, comumente denominado **trematódeo pulmonar**, é uma das diversas espécies de Paragonimus que infectam humanos e muitos outros animais. A Figura 76-7 demonstra o ciclo de vida familiar de um trematódeo, que vai de ovo a caramujo e à metacercária infectante. O estágio infectante ocorre em um segundo hospedeiro intermediário: os músculos e guelras de caranguejos e lagostins de água doce. Em humanos que ingerem carne infectada, a forma larvária do verme eclode no estômago e segue uma extensa migração pela parede intestinal, em direção à cavidade abdominal, atravessando o diafragma, e finalmente chega à cavidade pleural. Os vermes adultos residem nos pulmões e produzem ovos que são liberados de bronquíolos rompidos e aparecem no escarro, ou, quando deglutidos, nas fezes.

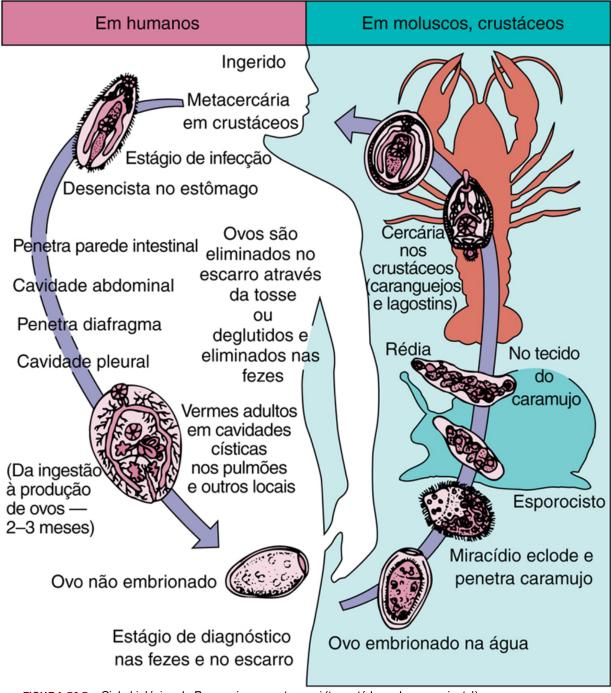


FIGURA 76-7 Ciclo biológico de Paragonimus westermani (trematódeo pulmonar oriental).

Epidemiologia

A paragonimíase ocorre em muitos países na Ásia, África e América Latina. Ela pode ser encontrada em refugiados do sudeste da Ásia. Sua prevalência está diretamente relacionada com o consumo de caranguejos e lagostins de água doce crus. Estima-se que aproximadamente 3 milhões de pessoas estejam infectadas por este trematódeo pulmonar. Em torno de 1% de todos os imigrantes indochineses para os Estados Unidos estão infectados por *P. westermani*. Uma grande variedade de

animais que se alimenta na margem de coleções de água doce (p.ex., javalis, suínos, macacos) serve como hospedeiros reservatórios, e algumas infecções humanas resultam da ingestão de carne, desses hospedeiros reservatórios, contendo formas larvárias do verme em migração. As infecções humanas endêmicas nos Estados Unidos são geralmente causadas por uma espécie relacionada, *P. kellicotti*, encontrada em caranguejos e lagostins nas águas orientais e do meio-oeste.

Síndromes Clínicas

As manifestações clínicas da paragonimíase podem resultar da migração de larvas através dos tecidos ou de adultos estabelecidos nos pulmões ou em outros locais ectópicos. O início da doença coincide com a migração larvar e está associado a febre, calafrios e alta eosinofilia. Os trematódeos adultos nos pulmões primeiramente produzem uma reação inflamatória que resulta em febre, tosse e aumento do escarro. À medida que a destruição do tecido pulmonar progride, ocorre cavitação ao redor dos vermes, o escarro se torna sanguinolento e escuro, com ovos (denominado escarro enferrujado), e os pacientes apresentam dor torácica intensa. A cavidade resultante pode se tornar secundariamente infectada por bactérias. Dispneia, bronquite crônica, bronquiectasia e efusão pleural podem ser observadas (Caso Clínico 76-3). Infecções crônicas levam à fibrose no tecido pulmonar. A localização das larvas, adultos e ovos em locais ectópicos pode produzir sintomas clínicos intensos, dependendo do local envolvido. A migração de larvas de vermes pode resultar na invasão da medula espinhal e cérebro, produzindo doença neurológica grave (problemas visuais, fraqueza motora, convulsões), citada como paragonimíase cerebral. A migração e infecção também podem ocorrer em locais subcutâneos, na cavidade abdominal e no fígado.



Caso Clínico 76-3 Paragonimíase

Singh et al. (Indian J Med Microbiol 23:131-134, 2005) descrevem o caso de paragonimíase pleuropulmonar imitando tuberculose pulmonar. O paciente era um homem de 21 anos que foi internado no hospital devido à dispneia progressiva, com um histórico de 1 mês de cefaleia, febre, tosse com rara hemoptise, fadiga, dor pleurítica, anorexia e perda de peso. Ele tinha um histórico de terapia antituberculose por 6 meses sem melhora clínica. Dois meses antes da admissão, após ingerir três caranguejos crus, ele apresentou episódio de diarreia aquosa por 3 dias. No momento da admissão hospitalar, o paciente estava caquético e afebril. Havia macicez bilateral à percussão e sons respiratórios ausentes nos dois terços inferiores do tórax. Ele estava anêmico e apresentava baqueteamento sem linfadenopatia, cianose ou icterícia. Uma radiografia de tórax demonstrou efusões pleurais bilaterais que também foram confirmadas pela TC. A toracocentese guiada por ultrassonografia do pulmão direito recuperou cerca de 200 ml de fluido amarelado. Este estava exsudativo e continha 2.700 leucócitos por ml, 91% dos quais eram eosinófilos. A coloração de Gram do fluido foi negativa, como a cultura para bactérias e fungos. Esfregaços delgados do escarro revelaram ovos amarelados operculados compatíveis com infecção por Paragonimus westermani. O paciente foi tratado com um curso de 3 dias de praziquantel e respondeu bem. Notavelmente, a efusão pleural do lado direito não retornou após a toracocentese e o tratamento com praziquantel. Este caso enfatiza a importância da realização de um diagnóstico etiológico de um processo pleuropulmonar, de forma a diferenciar paragonimíase de tuberculose em regiões onde ambas são doenças infecciosas endêmicas.

Diagnóstico Laboratorial

O exame de escarro e fezes revela ovos marrom-dourados e operculados (Fig. 76-8). Efusões pleurais, quando presentes, devem ser examinadas em busca de ovos. Radiografias torácicas frequentemente demonstram infiltrados, cistos nodulares e efusão pleural. É comum a presença de marcada eosinofilia. Procedimentos sorológicos estão disponíveis em laboratórios de referência e podem ser úteis, particularmente em casos com envolvimento extrapulmonar (p.ex., sistema nervoso central).



FIGURA 76-8 Ovo de *Paragonimus westermani*. Esses ovos grandes, ovoides (80 a 120 μm de comprimento × 45 a 70 μm de largura), apresentam uma casca espessa, castanho-amarelada e um opérculo distinto. (De CDC Public Health Image Library.)

O fármaco de escolha é o triclabendazol; o praziquantel é uma alternativa. A educação acerca do consumo de caranguejos e lagostins de água doce crus encontrados em áreas endêmicas, é crítica. A conserva e o embebimento em vinho de caranguejos e lagostins não matam o estágio infectante de metacercária. O saneamento e o controle adequados do descarte de fezes humanas são essenciais para controlar os esforços.

Esquistossomos

A esquistossomose é a principal infecção parasitária de áreas tropicais, com cerca de 200 milhões de infecções ao redor do mundo. Os três esquistossomos associados com mais frequência à doença humana são *Schistosoma mansoni, Schistosoma japonicum* e *Schistosoma haematobium*. Coletivamente, produzem a doença denominada de **esquistossomose**, também conhecida como **bilharzíase ou febre do caramujo**. Como discutido anteriormente, os esquistossomos diferem dos outros trematódeos: são machos e fêmeas em vez de hermafroditas, e seus ovos não possuem opérculo. Também são parasitas intravasculares obrigatórios e não são encontrados em cavidades, ductos e outros tecidos. As formas infectantes são **cercárias** que penetram ativamente na pele após serem liberadas do caramujo, e estas diferem das formas dos outros trematódeos, pois não são ingeridas na vegetação, em peixes ou crustáceos.

A Figura 76-9 ilustra o ciclo de vida dos diferentes esquistossomos. A infecção é iniciada por cercárias ciliadas, que nadam livremente na água doce e penetram na pele intacta, entram na circulação e se desenvolvem na circulação portal intra-hepática (*S. mansoni* e *S. japonicum*), ou nos plexos e veias vesicais, prostáticas, retais e uterinas (*S. haematobium*). A fêmea possui um corpo alongado, fino e cilíndrico, enquanto o macho, que é menor e aparenta ser cilíndrico, é na verdade achatado (Fig. 76-10). A aparência cilíndrica deriva da dobra das laterais do corpo para produzir um sulco, o canal ginecóforo, no qual a fêmea reside para fecundação. Ambos os sexos apresentam ventosas orais e ventrais e um sistema digestivo incompleto, o que é típico de um trematódeo.

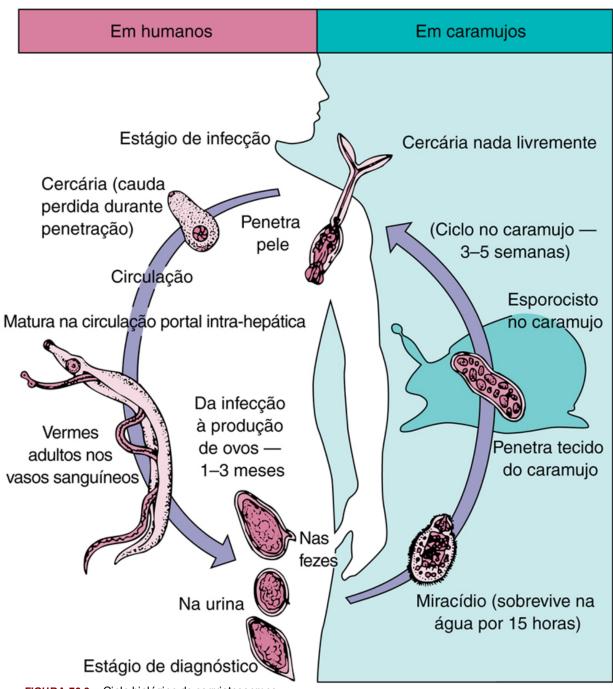


FIGURA 76-9 Ciclo biológico de esquistossomos.



FIGURA 76-10 Macho e fêmea de *Schistosoma mansoni* vivos. A fêmea mais estreita (*à direita*) é normalmente vista dentro do canal ginecóforo do macho (*à esquerda*) (ampliado 14 vezes). (De Peters W, Pasvol G: *Atlas of tropical medicine and parasitology*, ed 6, Philadelphia, 2007, Elsevier; cortesia do Professor RE Howells.)

À medida que o verme se desenvolve na circulação portal, ele elabora uma notável defesa contra a resistência do hospedeiro. Eles se recobrem com substâncias que o hospedeiro reconhece como sendo próprias; consequentemente, existe pequena resposta do hospedeiro direcionada contra a presença dos vermes nos vasos sanguíneos. Esse mecanismo protetor é responsável pelas infecções crônicas que podem durar de 20 a 30 anos ou mais.

Após se desenvolver na veia porta, os machos e fêmeas adultos formam casais e migram para sua localização final, onde a fecundação e a produção de ovos são iniciadas. *S. mansoni* e *S. japonicum* são encontrados nas veias mesentéricas e produzem a esquistossomose intestinal; *S. haematobium* ocorre nas veias ao redor da bexiga urinária e causa a esquistossomose vesical. Ao atingir as vênulas submucosas de suas respectivas localizações, os vermes iniciam a oviposição, que pode continuar a uma taxa de 300 a 3.000 ovos diariamente, por 4 a 35 anos. Apesar de a resposta inflamatória do hospedeiro direcionada ao verme adulto ser mínima, os ovos desencadeiam uma reação inflamatória intensa, com infiltrados celulares mononucleares e polimorfonucleares, e a formação de microabscessos. Além disso, a larva no interior do ovo produz enzimas que auxiliam na destruição tecidual e permitem que os ovos atravessem a mucosa e cheguem ao lúmen do intestino e bexiga, onde são eliminados para o meio ambiente nas fezes e urina, respectivamente.

Os ovos eclodem rapidamente ao atingirem água doce e liberam miracídios móveis. Os miracídios então invadem o hospedeiro caramujo apropriado, onde se desenvolvem em milhares de cercárias infectantes. As cercárias com capacidade de nadar livremente são liberadas na água, onde são de imediato infectantes para humanos e outros mamíferos.

A infecção é semelhante em todas as três espécies de esquistossomos humanos, pelo fato de que a doença resulta primariamente da resposta imune do hospedeiro aos ovos. Os primeiros sinais e sintomas se devem à penetração da cercária na pele. A hipersensibilidade imediata e tardia aos antígenos do parasita resulta em um exantema papular cutâneo intensamente pruriginoso.

O início da oviposição resulta em um complexo de sintomas denominado **síndrome de Katayama**, que é marcado por febre, calafrios, tosse, urticária, artralgias, linfadenopatia, esplenomegalia e dor abdominal. Essa síndrome é tipicamente encontrada 1 a 2 meses após a primeira exposição e pode persistir por 3 meses ou mais. Acredita-se que resulte da liberação maciça de antígenos parasitários, com subsequente formação de imunocomplexos. Anormalidades laboratoriais associadas incluem leucocitose, eosinofilia e gamopatia policlonal.

A fase mais crônica e significativa da esquistossomose se deve à presença de ovos em diversos tecidos e à resultante formação de granulomas e fibrose. Os ovos retidos induzem extensas inflamação e cicatrização, e o significado clínico destas está diretamente relacionado com a localização e com o número de ovos.

Devido a diferenças em alguns aspectos da doença e epidemiologia, tais vermes são discutidos como espécies separadas.

Schistosoma mansoni

Fisiologia e Estrutura

S. mansoni normalmente reside nos pequenos ramos da veia mesentérica inferior próximo ao cólon inferior. As espécies de *Schistosoma* podem ser diferenciadas pela morfologia característica de seus ovos (Figs. 76-11 a 76-13). Os ovos de *S. mansoni* são ovais, possuem um espículo lateral afiado, e medem de 115 a 175 μm × 45 a 70 μm (Fig. 76-11).

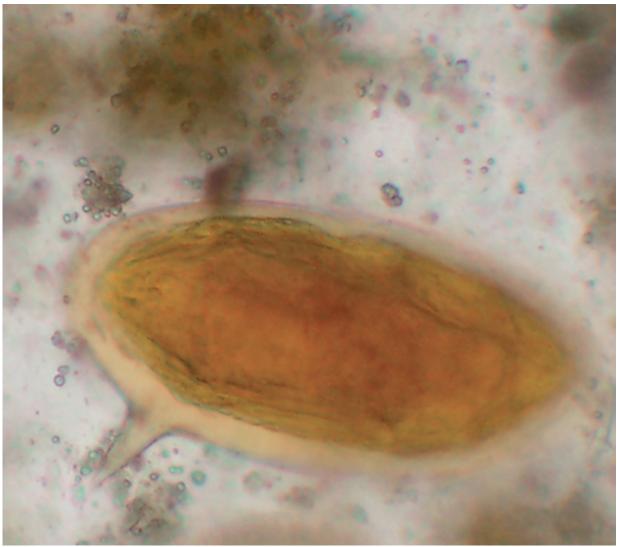


FIGURA 76-11 Ovo de *Schistosoma mansoni*. Esses ovos apresentam 115 a 175 μm de comprimento × 45 a 70 μm de largura, contêm um miracídio e são envoltos por uma fina casca com um espículo lateral proeminente.

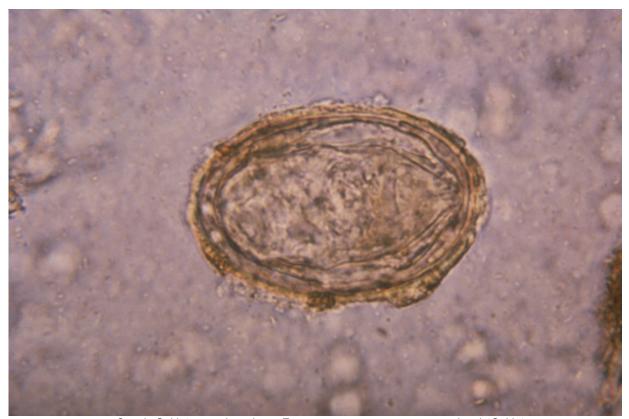


FIGURA 76-12 Ovo de *Schistosoma japonicum*. Esses ovos são menores que aqueles de *Schistosoma mansoni* (70 a 100 μm de comprimento × 55 a 65 μm de largura) e apresentam um espículo inconspícuo. (De CDC Public Health Image Library.)

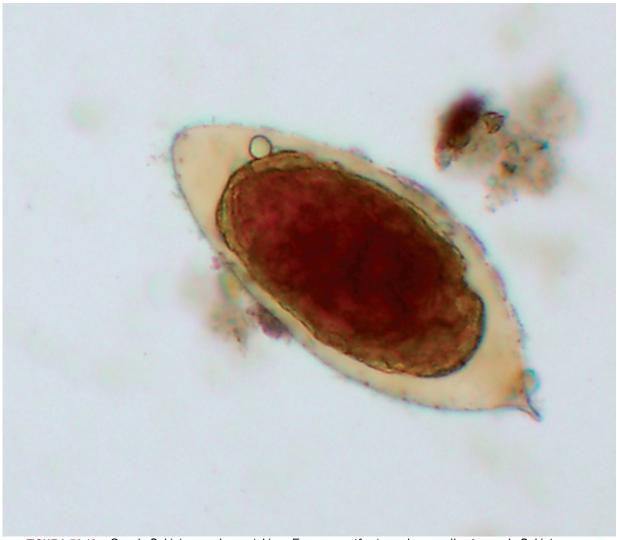


FIGURA 76-13 Ovo de *Schistosoma haematobium*. Esses ovos têm tamanho semelhante aos de *Schistosoma mansoni*, mas podem ser diferenciados pela presença de um espículo terminal, em vez de lateral.

A distribuição geográfica das várias espécies de *Schistosoma* depende da disponibilidade de um hospedeiro molusco apropriado. *S. mansoni* é o mais disperso dos esquistossomos e é endêmico na África, Arábia Saudita e Madagascar. Também se tornou bem estabelecido no hemisfério ocidental, em particular no Brasil, Suriname, Venezuela, partes das Antilhas e Porto Rico. Casos originários dessas áreas podem estar presentes nos Estados Unidos. Em todas estas áreas, existem também hospedeiros reservatórios, especialmente primatas, marsupiais e roedores. A esquistossomose pode ser considerada uma doença derivada do progresso econômico; o desenvolvimento de projetos de irrigação maciça de terras no deserto e áreas tropicais resultou na dispersão dos humanos e caramujos infectados para áreas previamente não envolvidas.

Síndromes Clínicas

A penetração cercariana da pele íntegra pode ser visualizada na forma de uma dermatite com reações alérgicas, prurido e edema. Vermes realizando migração pelos pulmões podem produzir tosse; à medida que atingem o fígado, pode aparecer hepatite.

Infecções por *S. mansoni* podem produzir anormalidades hepáticas e intestinais. À proporção que o trematódeo se instala nos vasos mesentéricos iniciando a deposição dos ovos, observam-se febre, mal-estar, dor abdominal e sensibilidade do fígado. A deposição de ovos na mucosa do intestino resulta de inflamação e espessamento da parede intestinal com dor abdominal associada, diarreia e sangue nas fezes. Os ovos podem ser carreados através da veia porta para o fígado, onde a inflamação pode levar à fibrose periportal e eventualmente à hipertensão portal e às suas manifestações associadas.

A infecção crônica por *S. mansoni* produz uma hepatoesplenomegalia significativa, com grandes acúmulos de fluido ascítico na cavidade peritoneal. Ao exame macroscópico, o fígado está salpicado de granulomas brancos (pseudotubérculos). Embora os ovos de *S. mansoni* sejam primariamente depositados no intestino, podem aparecer na medula espinal, pulmões e outros locais. Um processo fibrótico semelhante ocorre em cada local. Problemas neurológicos graves podem suceder à deposição de ovos na medula espinhal e cérebro (Caso Clínico 76-4). Na esquistossomose fatal causada por *S. mansoni*, um tecido fibroso, reagindo aos ovos no fígado, circunda a veia porta em uma camada espessa e macroscopicamente visível ("fibrose em haste de cachimbo de barro").

Ferrari (Medicine [Baltimore] 78:176-190, 1999) descreveu o caso de neuroesquistossomose devido a Schistosoma mansoni em um homem brasileiro de 18 anos. O paciente foi internado devido a um início recente de paraplegia. Ele estava com boa saúde até 33 dias antes da admissão, quando teve uma dor progressiva na parte inferior das costas com irradiação para os membros inferiores. Nesse período, foi avaliado três vezes em uma outra instituição, onde filmes de raios X da espinha torácica inferior, lombar e sacral estavam normais. Recebeu agentes anti-inflamatórios, com apenas alívio transitório de seus sintomas. Quatro semanas após o início da dor, a doença progrediu agudamente com impotência sexual, retenção fecal e urinária, e paraparesia progredindo para paraplegia. Nesse momento, a dor desapareceu, sendo substituída por uma marcada debilidade das sensações nos membros inferiores. Na admissão ao hospital, forneceu um histórico de exposição à infecção esquistossomótica. O exame neurológico revelou paraplegia flácida, marcada perda sensorial e ausência de reflexos superficiais e profundos ao nível e abaixo do nível de T11. O LCR continha 84 leucócitos/mm³ (98% de linfócitos, 2% de eosinófilos) e 1 eritrócito, 82 mg/dl de proteína total e 61 mg/dl de glicose. Mielografia, mielografia por TC e imagem por ressonância magnética (RM) demonstraram um leve alargamento do cone. O diagnóstico de neuroesquistossomose foi confirmado pela demonstração de ovos viáveis e mortos de S. mansoni em biópsia da mucosa retal. A concentração de imunoglobulina (Ig)G contra antígenos solúveis de ovo de S. mansoni no LCR, quantificada por ELISA, foi de 1,53 mg/ml. Ele foi tratado com prednisona e praziquantel. Apesar da terapia, sua condição permaneceu inalterada no acompanhamento 7 meses depois. S. mansoni é mundialmente a causa mais frequente relatada de mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE). A MRE está entre as formas mais graves de esquistossomose, e o prognóstico depende fundamentalmente do diagnóstico e tratamento precoces.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da esquistossomose é normalmente estabelecido pela demonstração de ovos característicos nas fezes. O exame das fezes revela ovos grandes e dourados com um espículo lateral afiado (Fig. 76-11). Técnicas de concentração podem ser necessárias em infecções brandas. Utilizando biópsias retais, os médicos podem visualizar as trilhas de ovos deixadas pelos vermes nos vasos do reto. A quantidade da eliminação de ovos nas fezes é útil para estimar a intensidade da infecção e no acompanhamento da resposta à terapia. Testes sorológicos também estão disponíveis, mas são principalmente apenas de interesse epidemiológico. O desenvolvimento de novos testes utilizando antígenos estágios-específicos pode permitir a distinção da doença entre a forma ativa e inativa e ter uma maior aplicação clínica.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel, e a alternativa é a oxamniquina. A terapia anti-helmíntica pode interromper a oviposição, mas não afeta as lesões causadas pelos ovos já depositados nos tecidos. A **dermatite esquistossomótica** e a síndrome de Katayama podem ser tratadas com a administração de anti-histamínicos e corticosteroides. A educação acerca dos ciclos de vida de tais vermes e o controle moluscicida dos caramujos são essenciais. A melhora no saneamento e no controle dos depósitos fecais humanos é crítica. Infelizmente, o tratamento com praziquantel promove baixas taxas de cura em algumas áreas, aumentando o espectro de resistência emergente a esse importante agente terapêutico. A adição de arteméter, um antimalárico, em combinação com praziquantel tem mostrado uma melhoria da atividade contra *S. mansoni* e *S. haematobium*. Em contraste com o praziquantel, o arteméter atua contra os esquistossomos juvenis no hospedeiro e pode ser utilizado como um agente quimioprofilático. Estão em desenvolvimento ensaios de vacinas, mas o antígeno-alvo ideal não foi identificado.

Schistosoma japonicum

Fisiologia e Estrutura

S. japonicum reside nos ramos da veia mesentérica superior, ao redor do intestino delgado e nos vasos mesentéricos inferiores. Os ovos de *S. japonicum* (Fig. 76-12) são menores, quase esféricos e possuem um pequeno espículo. São produzidos em quantidades maiores que as de *S. mansoni* e *S. haematobium*. Devido ao tamanho, formato e número de ovos, eles são carreados para outros locais no corpo (fígado, pulmões, cérebro), e a infecção com poucos adultos de *S. japonicum* pode ser mais grave que infecções envolvendo números semelhantes de *S. mansoni* ou *S. haematobium*.

Epidemiologia

Este **trematódeo sanguíneo oriental** é encontrado apenas na China, Japão, Filipinas e na ilha de Sulawesi, Indonésia. Problemas epidemiológicos têm relação direta com um grande espectro de hospedeiros reservatórios, muitos dos quais são domésticos (gatos, cães, bovinos, equinos, suínos).

Síndromes Clínicas

Os estágios iniciais da infecção por *S. japonicum* são semelhantes aos de *S. mansoni*, com dermatite, reações alérgicas, febre e mal--estar, seguidos de desconforto abdominal e diarreia. A síndrome de Katayama associada ao início da oviposição é

observada mais comumente na infecção por *S. japonicum* que por *S. mansoni*. Na infecção crônica por *S. japonicum*, é comum que sejam visualizadas doença hepatoesplênica, hipertensão portal, varizes esofágicas sangrantes e acúmulo de líquido ascítico. Granulomas que aparecem como pseudotubérculos dentro e sobre o fígado são comuns, juntamente com a fibrose em haste de cachimbo de barro como descrito para *S. mansoni*.

Schistosoma japonicum frequentemente envolve estruturas cerebrais quando os ovos alcançam o cérebro e granulomas se desenvolvem ao seu redor. As manifestações neurológicas incluem letargia, debilidade da fala, defeitos visuais e convulsões.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico de fezes demonstra os ovos pequenos e dourados com pequenos espículos; em geral, a biópsia retal é igualmente reveladora. Testes sorológicos estão disponíveis.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel. Prevenção e controle podem ser atingidos por medidas semelhantes às sugeridas para *S. mansoni*, especialmente a educação da população em áreas endêmicas acerca da purificação correta da água, saneamento e controle dos depósitos fecais humanos. O controle de *S. japonicum* também deve envolver o grande espectro de hospedeiros reservatórios e considerar o fato de que pessoas trabalham em plantações de arroz e em projetos de irrigação onde caramujos infectados estão presentes. O tratamento em massa pode oferecer ajuda, e a vacina pode ser desenvolvida.

Schistosoma haematobium

Fisiologia e Estrutura

Após o desenvolvimento no fígado, esses trematódeos sanguíneos migram para os plexos vesical, prostático e uterino da circulação venosa, de modo ocasional a corrente sanguínea portal, e apenas raras vezes outras vênulas.

Ovos grandes com um espículo terminal afiado (Fig. 76-13) são depositados na parede da bexiga e ocasionalmente nos tecidos uterinos e prostáticos. Aqueles depositados na parede da bexiga podem ser liberados no lúmen desse órgão e eliminados na urina.

Epidemiologia

Schistosoma haematobium ocorre por todo o Vale do Nilo e em muitas outras partes da África, incluindo as ilhas fora da costa leste. Ele também aparece na Ásia Menor, Chipre, sul de Portugal e Índia. Hospedeiros reservatórios incluem macacos, babuínos e chimpanzés.

Síndromes Clínicas

Os estágios iniciais da infecção por *S. haematobium* são semelhantes àqueles das infecções envolvendo *S. mansoni* e *S. japonicum*, com dermatite, reações alérgicas, febre e mal-estar. Diferentemente dos outros dois esquistossomos, *S. haematobium* produz como sintomas iniciais hematúria, disúria e frequência urinária. Associada à hematúria, a bacteriúria é com frequência uma condição crônica. A deposição de ovos nas paredes da bexiga pode eventualmente resultar em cicatrização, com perda da capacidade vesical e o desenvolvimento de uropatia obstrutiva.

Pacientes com infecções por *S. haematobium* envolvendo muitos trematódeos frequentemente demonstram carcinoma de células escamosas da bexiga. *S. haematobium* é comumente apontado como a principal causa do câncer de bexiga no Egito e em outras partes da África. Os granulomas e pseudotubérculos observados na bexiga também podem estar presentes nos pulmões. A fibrose no leito pulmonar causada pela deposição de ovos leva a dispneia, tosse e hemoptise.

Diagnóstico Laboratorial

O exame de amostras de urina revela ovos grandes e com espículo terminal. Ocasionalmente, a biópsia da bexiga é útil no estabelecimento de um diagnóstico. Os ovos de *S. haematobium* podem aparecer nas fezes se os vermes migrarem para os vasos mesentéricos. Testes sorológicos também estão disponíveis.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel. No momento, educação, possível tratamento em massa e o desenvolvimento de uma vacina são as melhores abordagens para o controle da doença por *S. haematobium*. Os problemas básicos dos projetos de irrigação (p.ex., construção de represa), migração de populações humanas e múltiplos hospedeiros reservatórios tornam a prevenção e o controle extremamente difíceis. Relatos recentes sobre a segurança e eficácia de mefloquina-artesunato no tratamento da esquistossomose causada por *S. haematobium* são de grande interesse, visto o potencial para o desenvolvimento de resistência ao praziquantel entre os esquistossomos.

Dermatite Cercariana

Diversos esquistossomos não humanos apresentam cercárias que penetram na pele humana, produzindo uma dermatite intensa ("coceira do nadador"), mas estes esquistossomos não conseguem se desenvolver em vermes adultos. Os

hospedeiros naturais são aves e outros animais que se alimentam na margem, provenientes de lagos de água doce ao redor do mundo e algumas praias marinhas. O prurido intenso e a urticária devido a essa penetração na pele podem levar à infecção secundária bacteriana, por causa da lesão pela coceira nos locais de infecção.

O tratamento consiste em trimeprazina oral e aplicação tópica de agentes paliativos. Quando indicados, sedativos podem ser utilizados. O controle é difícil em virtude da migração de aves e da transferência de caramujos vivos de lago para lago. Moluscicidas, como o sulfato de cobre, produziram alguma redução nas populações de caramujos. A secagem imediata da pele quando as pessoas deixam tais águas oferece alguma proteção.

Referências Bibliográficas

Connor DH, Schwartz DA. Pathology of infectious diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange; 1997.

Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. ed 5 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2006.

John DT, Petri Jr WA. Markell and Voge's medical parasitology. ed 9 Philadelphia: Elsevier; 2006.

Jones MK, et al. Trematodes. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Keiser J, Utzinger J. Food-borne trematodiases. Clin Microbiol Rev. 2009;22:466–483.

Keiser J, N'Guessan NA, Adoubryn KD, et al. Efficacy and safety of mefloquine, artesunate, mefloquine-artesunate, and praziquantel against *Schistosoma haematobium*: randomized, exploratory open-label trial. *Clin Infect Dis.* 2010;50:1205–1213.

McManus DP, Loukas A. Current status of vaccines for schistosomiasis. Clin Microbiol Rev. 2008;21:225–242.

Meltzer E, Artom G, Marva E, et al. Schistosomiasis among travelers: new aspects of an old disease. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:1696–1700. Strickland GT. *Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases*. Philadelphia: WB Saunders; 2000.

CAPÍTULO 77

Cestoides

Um homem hispânico de 30 anos deu entrada na emergência após uma convulsão neurológica focal. Ele havia emigrado recentemente do México e estava em seu estado habitual de boa saúde antes da convulsão. O exame neurológico não revelou achado focal persistente. Uma tomografia computadorizada (TC) da cabeça revelou pequenas lesões císticas múltiplas em ambos os hemisférios cerebrais. A calcificação pontuada foi notada em diversas lesões. Uma punção lombar revelou um nível de glicose de 65 mg/dL (normal) e um nível de proteína de 38 mg/dL (normal) no líquido cefalorraquidiano. A contagem de leucócitos foi de 20/mL (anormal) com um diferencial de 5% de neutrófilos, 90% de linfócitos e 5% de monócitos. Um teste intradérmico derivativo com proteína purificada foi negativo, com controles positivos. O teste sorológico para vírus da imunodeficiência humana foi negativo.

- 1. Qual é o diagnóstico diferencial desse processo neurológico do paciente?
- 2. Que parasita(s) pode(m) ter causado essa condição?
- 3. Que testes diagnósticos estão disponíveis para essa infecção?
- 4. Quais são as opções terapêuticas para esse paciente?
- 5. Como as pessoas se tornam infectadas por esse parasita?
- 6. Que locais teciduais (além do sistema nervoso central) podem estar envolvidos? Como esses focos adicionais de infecção poderiam ser documentados?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Taenia solium

Palavras-gatilho

Tênia (verme em fita), cisticercose, proglotide, tênia do porco, escólex, oncosfera

Biologia, Virulência e Doença

- *Taenia solium* (tênia do porco): cestoide; plano, segmentado, semelhante a uma fita (estróbilo); cabeça (escólex) equipada com quatro ventosas musculares em forma de taça e uma coroa de ganchos que servem como órgão de apreensão
- Ciclo de vida complexo envolvendo hospedeiros intermediários; os humanos podem ser uma forma de hospedeiro intermediário (cisticercose) que apresenta fases larvares em locais extraintestinais
- A T. solium adulta no intestino raramente causa desconforto abdominal, indigestão crônica, diarreia
- Cisticercose: infecção dos humanos com fase larvar de *T. solium* (cisticerco ou verme vesical), que habitualmente infecta os porcos

Epidemiologia

- Infecção por T. solium diretamente correlacionada com a ingestão de carne de porco mal cozida
- Cisticercose encontrada em áreas onde *T. solium* é prevalente; diretamente correlacionada com a contaminação fecal humana
- Infecção por *T. solium* e cisticercose prevalentes nos países da América Latina, África, Ásia e países eslavos; observado, de forma pouco frequente, nos Estados Unidos

Diagnóstico

- O exame das fezes pode revelar ovos e proglotes
- Cisticercose habitualmente diagnosticada pela detecção de cisticercos calcificados nas radiografias de tecidos moles, remoção cirúrgica de nódulos subcutâneos e visualização de cistos nos olhos
- As lesões do sistema nervoso central podem ser detectadas pelo estudo imagiológico
- Os estudos sorológicos podem ser úteis no diagnóstico da cisticercose

Tratamento, Prevenção e Controle

- Fármaco de eleição para a infecção por *T. solium*: niclosamida; alternativas eficazes englobam o praziquantel, paromomicina, quinacrina
- Prevenção da infecção da tênia do porco: cozinhar a carne até o seu interior se tornar cinzento; congelar a carne a -20°C durante, pelo menos, 12 horas
- Fármaco de eleição para a cisticercose: praziquantel ou albendazol
- Pode ser necessária a remoção cirúrgica de cistos cerebrais e oculares
- Prevenção e controle: tratamento de casos humanos portadores de *T. solium* adultos, controle do descarte de fezes humanas

Diphyllobothrium latum

Palavras-gatilho

Tênia do peixe, deficiência de vitamina B₁₂, peixe recheado (*gefilte fish*), copépodes

Biologia, Virulência e Doença

- *Diphyllobothrium latum* (tênia do peixe): uma das maiores tênias que infecta o ser humano (de 6 a 9 metros de comprimento)
- O ciclo de vida de *D. latum* é complexo; dois hospedeiros intermediários: crustáceos de água doce, peixes de água doce
- O ser humano é infectado quando ingere peixe cru ou mal cozido contendo formas larvares
- *D. latum* estabelece a infecção no intestino delgado; pode atingir um comprimento de 6 a 9 metros e produzir mais de 1 milhão de ovos por dia
- A maioria das infecções por *D. latum* é assintomática; os sintomas incluem dor epigástrica, cólicas abdominais, náuseas, perda de peso

Epidemiologia

- A infecção por *D. latum* ocorre em todo o mundo, com maior prevalência em regiões de lagos frios onde o consumo de peixe cru ou marinado é popular
- Alimentos mal cozidos em fogo de acampamento e o consumo sazonal de "peixe recheado" (*gefilte fish*) são responsáveis por muitas infecções
- O despejo de esgoto cru para lagos de água doce contribui para a propagação dessa tênia

Diagnóstico

- O exame microscópico de fezes revela ovos operculados, com cor de bílis, com uma protuberância na base da casca
- Também podem ser detectados proglotideos típicos

Tratamento, Prevenção e Controle

- O fármaco de eleição é a niclosamida; alternativas aceitáveis englobam o praziquantel e paromomicina
- A suplementação com vitamina B₁₂ pode ser necessária em indivíduos com evidência clínica de deficiência em B₁₂
- A prevalência dessa infecção é reduzida ao evitar a ingestão de peixe cru ou mal cozido, controlar a eliminação dos dejetos humanos e tratar rapidamente as infecções

Os corpos dos cestoides, **tênias**, são achatados e semelhantes a uma fita (Fig. 77-1), e as cabeças são equipadas com órgãos de fixação. A cabeça, ou **escólex**, do verme normalmente possui quatro ventosas musculares e côncavas e uma coroa de acúleos (Fig. 77-2). A exceção é o *Diphyllobothrium latum*, a tênia do peixe, no qual o escólex é equipado com um par de fendas musculares laterais longas e não possui acúleos.



FIGURA 77-1 Verme adulto intacto de *Diphyllobothrium latum*. A cadeia de proglotes (estróbilo) pode alcançar um comprimento de 10 metros. (De Peters W, Pasvol G: *Atlas of tropical medicine and parasitology*, ed 6, Philadelphia, 2007, Elsevier.)

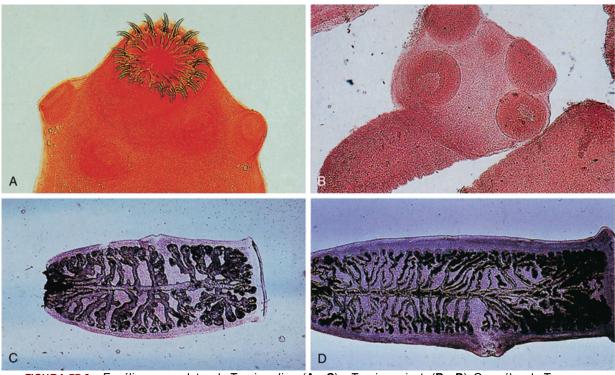


FIGURA 77-2 Escólices e proglotes de *Taenia solium* (A e C) e *Taenia saginata* (B e D). O escólex de *T. solium* (A) é armado com acúleos, além de quatro ventosas. *T. saginata* não tem acúleos (B). As proglotes grávidas de *T. solium* (C) contêm um útero central com até 12 ramificações laterais. Os segmentos grávidos de *T. saginata* (D) contêm um útero central com 15 a 20 ramos laterais. (De Peters W, Pasvol G: *Atlas of tropical medicine and parasitology*, ed 6, Philadelphia, 2007, Elsevier; C e D, Cortesia do Professor D. Greenwood.)

Os segmentos individuais dos cestoides são denominados **proglotes** (Fig. 77-2), e a cadeia de proglotes é denominada **estróbilo** (Fig. 77-1). Conforme as novas proglotes se desenvolvem, as existentes sofrem maturação, à medida que se tornam mais distais. As proglotes mais distais estão grávidas, quase completamente ocupadas por um útero repleto de ovos, sendo eliminados nas fezes do hospedeiro, tanto no interior de proglotes como livres, após o rompimento destas. A diferenciação dos diversos cestoides adultos pode ser realizada por meio do exame da estrutura das proglotes eliminadas

(comprimento, largura, número de ramificações uterinas) ou (mais raramente) do escólex (número e localização das ventosas, presença ou ausência de acúleos).

Todos os cestoides são hermafroditas, com os órgãos reprodutores masculino e feminino presentes em cada proglote madura. Os ovos da maioria dos cestoides não são operculados e contêm um **embrião hexacanto** provido de seis acúleos; a única exceção, *D. latum*, possui um ovo operculado não embrionado, semelhante aos ovos dos trematódeos. Os cestoides não possuem sistema digestivo, de modo que o alimento é absorvido do intestino do hospedeiro através da parede tenra do corpo do verme. A maioria dos cestoides encontrada no intestino humano possui um ciclo de vida complexo envolvendo hospedeiros intermediários, e, em alguns casos (cisticercose, equinococose, esparganose), os humanos servem como uma forma de hospedeiros intermediários que albergam os estágios larvários. A presença de larvas extraintestinais é, algumas vezes, mais séria que a presença de vermes adultos no intestino. Os cestoides de importância médica mais comuns estão listados na Tabela 77-1.



Tabela 77-1

Cestoides de Importância Médica

Cestoide	Nome Comum	Reservatório das Larvas	Reservatório dos Adultos
Taenia solium	Tênia do porco	Suínos	Humanos
	Cisticercose	Humanos	_
Taenia saginata	Tênia do boi	Bovinos	Humanos
Diphyllobothrium latum	Tênia do peixe	Crustáceos e peixes de água doce	Humanos, cães, gatos, ursos
Echinococcus granulosus	Cisto hidático unilocular	Herbívoros, humanos	Caninos
Echinococcus multilocularis	Cisto hidático alveolar	Herbívoros, humanos	Raposas, lobos, cães, gatos
Hymenolepis nana	Tênia anã	Roedores, humanos	Roedores, humanos
Hymenolepis diminuta	Tênia anã	Insetos	Roedores, humanos
Dipylidium caninum	Tênia em forma de semente de abóbora	Pulgas	Cães, gatos

Taenia solium

Fisiologia e Estrutura

O estágio larvar, ou cisticerco ("verme vesicular"), das espécies de *Taenia*, consiste em um escólex, que está invaginado em uma vesícula preenchida por fluido. O cisto larvar se desenvolve nos tecidos do hospedeiro intermediário, mede de 4 a 6 mm de comprimento por 7 a 11 mm de largura, e tem uma aparência perolada nos tecidos. Após uma pessoa ingerir musculatura suína contendo a forma larvária do verme, a fixação do escólex com suas quatro ventosas musculares e coroa de acúleos (Fig. 77-2) inicia a infecção no intestino delgado (Fig. 77-3). O verme então produz proglotes até que se desenvolva um estróbilo delas, podendo ter vários metros de comprimento. As proglotes sexualmente maduras contêm ovos, e, à medida que deixam o hospedeiro pelas fezes, podem contaminar a água e a vegetação ingerida pelo suíno. As proglotes grávidas têm comprimento e largura similares (1 cm × 1 cm) e contêm poucas (< 12) ramificações uterinas laterais (Fig. 77-2). Os ovos no suíno se tornam uma forma larvária de seis acúleos, denominada *oncosfera*, que penetra na parede intestinal do suíno, migra pela circulação para os tecidos e se torna um cisticerco para completar o ciclo de vida.

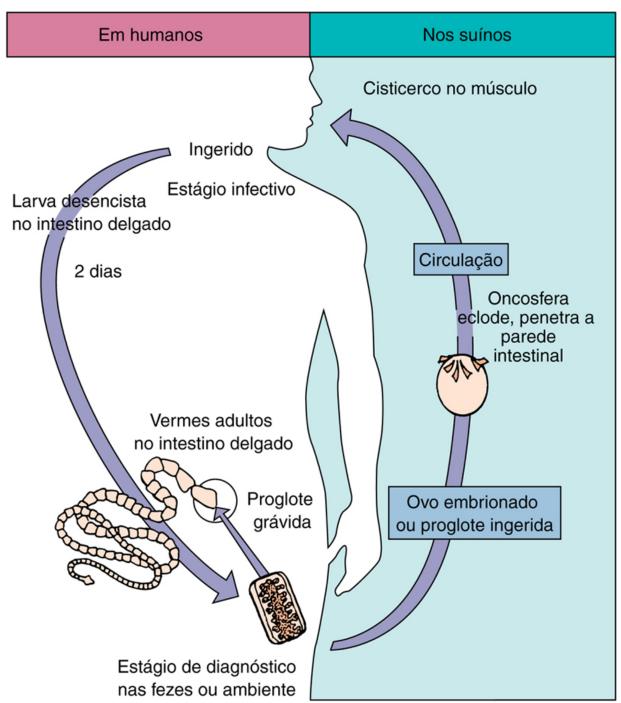


FIGURA 77-3 Ciclo biológico de Taenia solium (tênia do porco).

A infecção por *T. solium* está diretamente correlacionada com a ingestão de carne suína malcozida e é prevalente na África, Índia, sudeste da Ásia, China, México e países da América Latina e eslavos. Ela não é encontrada com frequência nos Estados Unidos.

Síndromes Clínicas

A forma adulta da *T. solium* no intestino raramente causa sintomas apreciáveis. O intestino pode estar irritado nos locais de fixação e podem ocorrer desconforto abdominal, indigestão crônica e diarreia. A maioria dos pacientes toma ciência da infecção apenas quando visualiza proglotes ou pedaços do estróbilo nas fezes.

Diagnóstico Laboratorial

O exame das fezes pode revelar proglotes e ovos, e o tratamento pode resultar na expulsão de todo o verme para identificação. Os ovos são esféricos, de 30 a 40 µm de diâmetro, possuem casca espessa, estriada radialmente, e contêm um embrião hexacanto dotado de seis acúleos (Fig. 77-4). Os ovos são idênticos aos de *Taenia saginata* (tênia do boi), de forma que os ovos sozinhos não são suficientes para a identificação de espécie. O exame criterioso de proglotes revela sua estrutura interna, que é importante para a diferenciação entre *T. solium* e *T. saginata*. As proglotes grávidas de *T. solium* são

menores que as de *T. saginata* e contêm apenas 7 a 12 ramificações uterinas laterais, comparadas às 15 a 30 no caso da tênia do boi (Fig. 77-2).



FIGURA 77-4 Ovo de *Taenia*. Os ovos são esféricos, com 30 a 40 µm em diâmetro, e contêm três pares de acúleos internamente. Os ovos de diferentes espécies de *Taenia* não podem ser diferenciados.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a niclosamida. O praziquantel, a paromomicina ou a quinacrina são alternativas eficazes. A prevenção da infecção pela **tênia do porco** requer que a carne suína seja cozida até que o interior esteja cinza, ou que seja congelada a –20°C por pelo menos 12 horas. O saneamento é crítico; todo esforço deve ser feito para manter as fezes humanas contendo ovos de *T. solium* longe da água e vegetação ingeridas por suínos.

Cisticercose

Fisiologia e Estrutura

A **cisticercose** envolve a infecção de pessoas pelo estágio larvar de *T. solium*, o cisticerco, que normalmente infecta suínos (Fig. 77-5). A ingestão pelo homem de água ou vegetação contaminada por ovos de *T. solium*, a partir de fezes humanas, inicia a infecção. A autoinfecção pode ocorrer quando ovos, provenientes de uma pessoa infectada pelo verme adulto, são transferidos da área perianal para a boca pelos dedos contaminados. Ingeridos, os ovos eclodem no estômago do hospedeiro intermediário, liberando o embrião hexacanto ou oncosfera. A **oncosfera** penetra na parede intestinal e migra pela circulação para os tecidos, onde se desenvolve em cisticerco em 3 a 4 meses. Os cisticercos podem se desenvolver na musculatura, tecido conjuntivo, cérebro, pulmões e olhos e permanecer viáveis por até 5 anos.

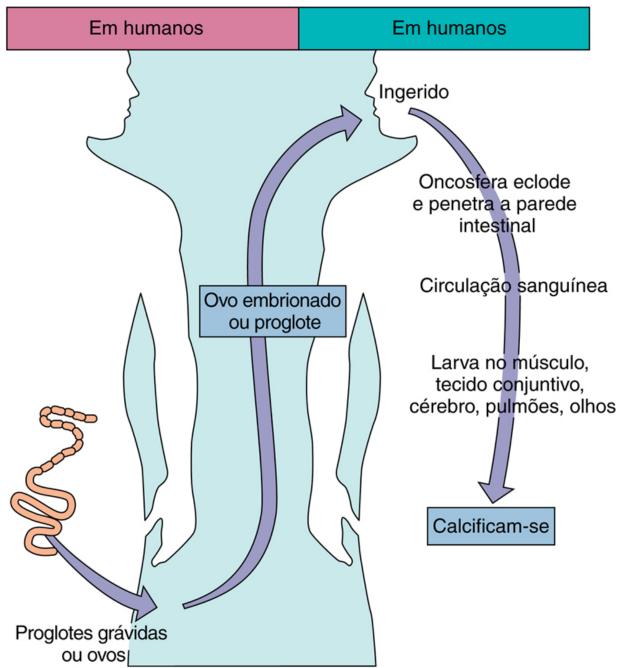


FIGURA 77-5 Desenvolvimento de cisticercose humana.

A cisticercose é encontrada em áreas onde a *T. solium* é prevalente e está diretamente correlacionada com a contaminação fecal humana. Além da transmissão fecal-oral, a autoinfecção pode ocorrer quando uma proglote contendo ovos é regurgitada do intestino delgado para o estômago, permitindo que os ovos eclodam e liberem a oncosfera infectante.

Síndromes Clínicas

Poucos cisticercos em áreas não vitais (p.ex., tecidos subcutâneos) podem não provocar sintomas, mas uma doença séria pode ocorrer, caso os cisticercos se alojem em áreas vitais, como o cérebro e os olhos. No cérebro, eles podem produzir hidrocefalia, meningite, dano ao nervo cranial, convulsões, reflexos hiperativos e defeitos visuais (Caso Clínico 77-1). Nos olhos, a perda da acuidade visual pode ocorrer, e se a larva se alojar ao longo do trato óptico, defeitos do campo visual podem acontecer. A reação tecidual às larvas viáveis pode ser apenas moderada, portanto minimizando os sintomas. Entretanto, a morte da larva resulta na liberação de material antigênico que estimula uma notável reação inflamatória; e a exacerbação dos sintomas pode resultar em febre, dores musculares e eosinofilia.



Caso Clínico 77-1 Neurocisticercose

Chatel et al. (*Am J Trop Med Hyg* 60:255-256, 1999) descreveram o caso de neurocisticercose em um italiano que viajou para a América Latina. O paciente era um homem de 49 anos com uma história de uma estada de 30 dias na América

Latina (Salvador, Colômbia, Guatemala), 3 meses antes da apresentação de febre e mialgia. O exame clínico e os resultados de exames laboratoriais de rotina estavam normais, exceto pela elevação dos níveis de creatina fosfoquinase e eosinofilia branda. Ele recebeu terapia anti-inflamatória sintomática, rapidamente melhorou e foi liberado com um diagnóstico de polimiosite. Dois anos depois, foi admitido no hospital com cefaleia retro-ocular e hemianopsia direita recorrente. Um exame neurológico revelou um reflexo de Babinski esquerdo sem disfunções motoras ou sensoriais. Testes laboratoriais estavam sem alterações dignas de nota, incluindo um exame parasitológico de fezes negativo. Um exame de imagem cerebral por ressonância magnética (RM) demonstrou a presença de diversos cistos (4 a 15 mm de diâmetro) intraparenquimais, subaracnoidais e intraventriculares, com edema focal perilesional e intensificação em forma de anel. Uma resposta específica de anticorpos para cisticercose foi demonstrada por técnicas de ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA) e *immunoblot*. O paciente foi tratado com albendazol por dois ciclos de 8 dias cada. Um ano depois, ele estava em boa saúde, e a RM cerebral revelou redução significativa no diâmetro das lesões. Este caso proporciona um interessante aviso do risco pequeno, mas real, de os viajantes adquirirem infecções por *Taenia solium* durante viagens ao exterior.

Diagnóstico Laboratorial

A presença de cisticercos normalmente é estabelecida pelo aparecimento de cisticercos calcificados em radiografias de tecidos moles, remoção cirúrgica de nódulos subcutâneos e a visualização de cistos no olho. Lesões do sistema nervoso central podem ser detectadas por tomografia computadorizada, exame por radioisótopo ou ultrassonografia. Estudos sorológicos podem ser úteis; resultados falso-positivos podem ocorrer em pessoas com outras infecções helmínticas.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha para a cisticercose é tanto o praziquantel quanto o albendazol. A administração concomitante de esteroide pode ser necessária para minimizar a resposta inflamatória da larva em processo de morte. A remoção cirúrgica de cistos cerebrais e oculares pode ser necessária. O tratamento dos casos humanos, albergando o adulto de *T. solium* (para reduzir a transmissão de ovos), e o descarte controlado das fezes humanas são críticos para a prevenção e controle da infecção humana. Essas medidas também reduzem a probabilidade da infecção dos suínos.

Taenia saginata

Fisiologia e Estrutura

O ciclo de vida de *T. saginata*, a tênia do boi, é semelhante ao de *T. solium* (Fig. 77-6), sendo a infecção o resultado da ingestão de cisticercos em carne de boi malcozida. Após o desencistamento, a larva se desenvolve na forma adulta no intestino delgado e inicia a produção de ovos nas proglotes maduras. O verme adulto pode parasitar o jejuno e o intestino delgado de humanos por até 25 anos, atingindo 10 m de comprimento. Em contraste com as infecções por *T. solium*, a cisticercose produzida por *T. saginata* não ocorre em humanos. O verme adulto de *T. saginata* também difere do de *T. solium*, pois não possui uma coroa de acúleos no escólex e apresenta estrutura diferente das ramificações uterinas nas proglotes (Fig. 77-2). As proglotes grávidas são mais longas que largas (18 a 20 mm × 5 a 7 mm) e contêm de 15 a 30 ramificações uterinas laterais. Esses fatos são importantes na diferenciação entre as duas tênias, mas não afetam a terapia.

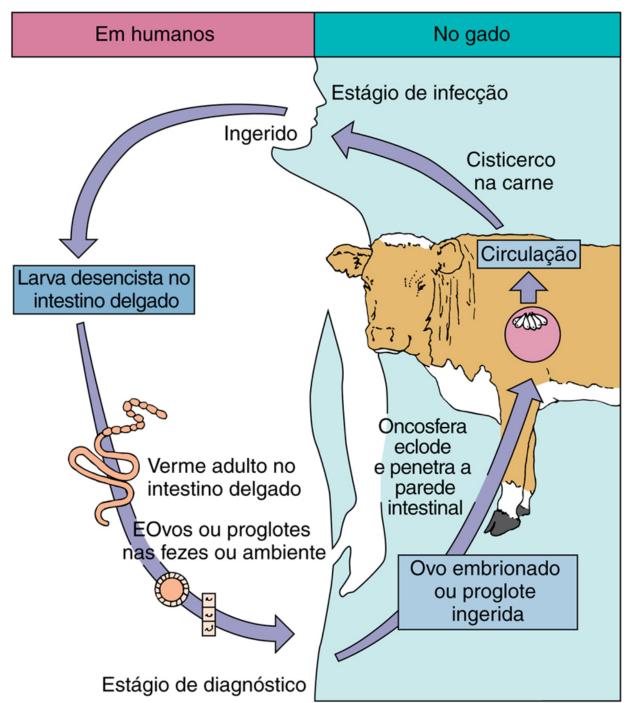


FIGURA 77-6 Ciclo biológico de Taenia saginata (tênia do boi).

T. saginata ocorre no mundo todo, sendo uma das mais frequentes causas de infecções por cestoides nos Estados Unidos. Os humanos e os bovinos perpetuam o ciclo de vida: as fezes humanas contaminam a água e a vegetação com ovos, que são ingeridos pelos bovinos. Os cisticercos nos bovinos produzem vermes adultos nos humanos quando a carne crua ou malcozida é ingerida.

Síndromes Clínicas

A síndrome que resulta da infecção pela *T. saginata* é semelhante à infecção intestinal pela *T. solium*. Os pacientes são, em geral, assintomáticos ou podem se queixar de dores abdominais vagas, indigestão crônica e dores de fome. As proglotes podem ser eliminadas ativamente pelo ânus.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da infecção por *T. saginata* é semelhante ao de *T. solium*, com a recuperação de proglotes e ovos, ou de todo o verme, no qual o escólex não possui acúleos. O estudo das ramificações uterinas nas proglotes diferencia a *T. saginata* da *T. solium*.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento é idêntico ao realizado para a fase intestinal de *T. solium*. Tanto o praziquantel como a niclosamida são altamente eficazes na eliminação do verme adulto. A educação acerca do cozimento da carne bovina e do controle do descarte de fezes humanas é uma medida crítica.

Diphyllobothrium latum

Fisiologia e Estrutura

Um dos maiores cestoides (aproximadamente de 600 a 900 cm de comprimento) (Fig. 77-1), *D. latum* (tênia do peixe) possui um ciclo de vida complexo, envolvendo dois hospedeiros intermediários: crustáceos e peixes de água doce (Fig. 77-7). A forma larvária do verme em forma de fita, presente na carne de peixes de água doce, é denominada espargano. A ingestão desse espargano em peixes crus ou malcozidos inicia a infecção. O escólex de *D. latum* tem a forma de uma lança e possui fendas laterais longas (bótria) que servem como órgãos de fixação. As proglotes (Fig. 77-8)de *D. latum* são muito mais largas que longas (≈ 8 por 4 mm), possuem uma estrutura uterina central que lembra uma roseta e produzem ovos com um opérculo (semelhantes aos dos trematódeos) e uma protuberância na casca na sua parte inferior. Os vermes adultos podem produzir ovos por meses ou anos. Mais de um milhão de ovos por dia são liberados no fluxo fecal. Ao alcançarem a água doce, os ovos operculados e não embrionados necessitam de um período de 2 a 4 semanas para desenvolverem uma forma larvária ciliada e que nada livremente, denominada coracídio. O coracídio totalmente desenvolvido deixa o ovo através do opérculo e é ingerido por pequenos crustáceos, denominados copépodes (p.ex., espécies de *Cyclops* e *Diaptomus*); o coracídio então se desenvolve na forma larvar de procercoide. Os crustáceos albergando as formas larvárias são ingeridos por um peixe, e a larva infectante plerocercoide, ou larva espargano, se desenvolve na musculatura do peixe. Se o peixe for ingerido por outro peixe, o espargano simplesmente migra para os músculos do segundo peixe. Os humanos são infectados quando ingerem peixe cru ou inapropriadamente cozido, contendo as formas larvárias.

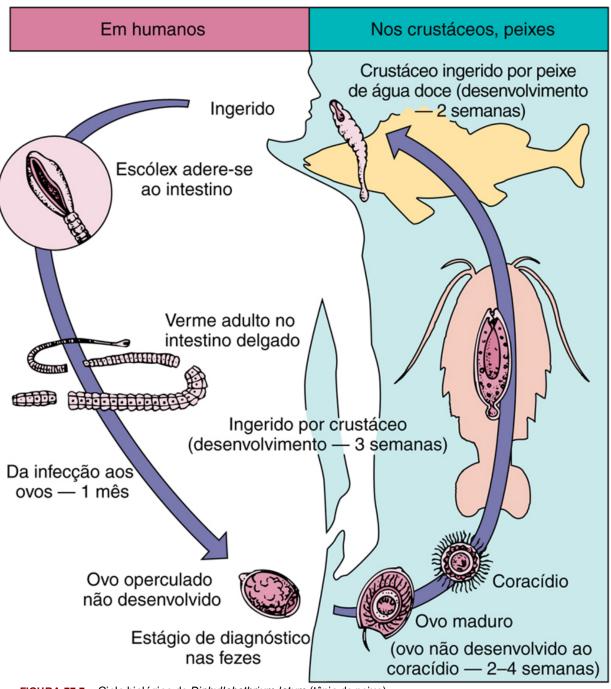


FIGURA 77-7 Ciclo biológico de Diphyllobothrium latum (tênia do peixe).

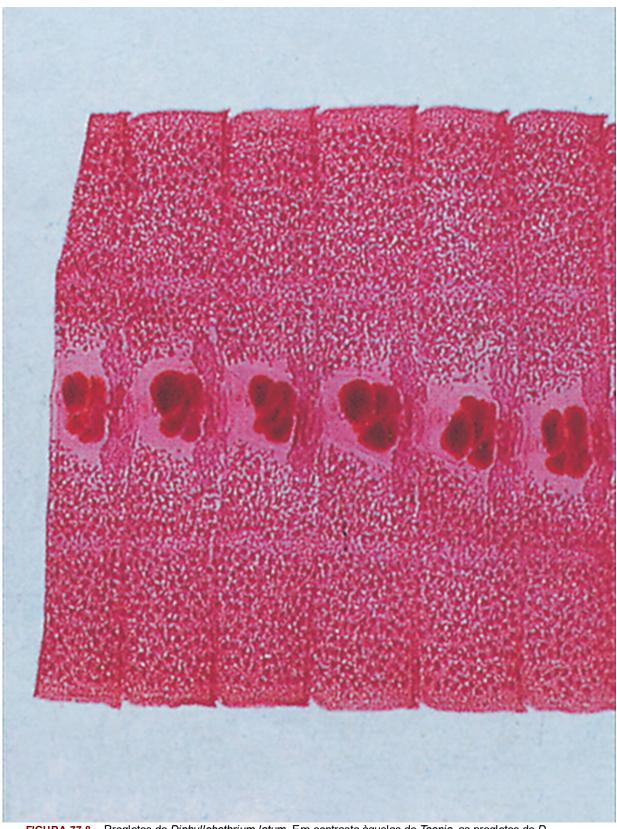


FIGURA 77-8 Proglotes de *Diphyllobothrium latum*. Em contraste àquelas de *Taenia*, as proglotes de *D. latum* são mais largas que longas. (De Peters W, Pasvol G: *Atlas of tropical medicine and parasitology*, ed 6, Philadelphia, 2007, Elsevier.)

Epidemiologia

A infecção por *D. latum* ocorre mundialmente, de forma mais prevalente em regiões de lagos frios, onde o peixe cru ou em conserva é popular. O cozimento insuficiente em fogueiras e o ato de provar e temperar o "peixe recheado" são responsáveis por muitas infecções. Um reservatório de animais selvagens infectados — como ursos, martas, morsas e membros das famílias caninas e felinas que ingerem peixe — é também fonte para as infecções humanas. A prática do despejo de esgoto não tratado em lagos de água doce contribui para a propagação desse cestoide.

Síndromes Clínicas

Em termos clínicos, assim como é o caso da maior parte das infecções por cestoides adultos, a maioria das infecções por D. latum é assintomática (Caso Clínico 77-2). Ocasionalmente, as pessoas se queixam de dor epigástrica, cólicas abdominais, náusea, vômito e perda de peso. Em torno de 40% dos portadores de D. latum podem apresentar níveis séricos baixos de vitamina B_{12} , presumivelmente devido à competição entre o hospedeiro e o verme por vitamina B_{12} da dieta. Uma pequena porcentagem (0,1% a 2%) de pessoas infectadas por D. latum desenvolve sinais clínicos de deficiência de vitamina B_{12} , incluindo anemia megaloblástica e manifestações neurológicas como entorpecimento, parestesia e perda da sensação de vibração.



Caso Clínico 77-2 Difilobotríase

Lee et al. (*Korean J Parasitol* 39:319-321, 2001) relataram o caso de difilobotríase em uma menina. Uma garota de 7 anos foi examinada em uma consulta clínica, logo após a eliminação de uma cadeia de proglotes de tênia, medindo 42 cm de comprimento. Ela não tinha história de ingestão de peixe cru, exceto uma vez quando ingeriu carne de salmão crua, com o resto de sua família, aproximadamente 7 meses antes. O salmão foi pescado em um rio local. Ela não se queixava de qualquer desconforto gastrointestinal, e todos os estudos bioquímicos do sangue e hematológicos estavam normais. Os estudos coprológicos foram positivos para ovos de *Diphyllobothrium latum*. O verme foi identificado como *D. latum*, com base nas características biológicas das proglotes: morfologia externa larga e estreita, enrolamento do útero, número das alças uterinas, posição da abertura genital. Uma única dose de praziquantel de 400 mg foi administrada, mas o exame das fezes permaneceu positivo 1 semana depois. Uma outra dose de 600 mg foi administrada, e a repetição do exame parasitológico das fezes 1 mês após foi negativa. Entre os quatro membros da família que haviam ingerido o peixe cru, apenas dois, a menina e sua mãe, foram identificados como estando infectados. O consumo de salmão cru, especialmente aqueles produzidos pela aquicultura, é um risco para a difilobotríase humana.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela ovos corados por bile, operculados, com uma protuberância na parte inferior da casca (Fig. 77-9). Proglotes típicas com a estrutura uterina em forma de roseta também podem ser encontradas nas amostras de fezes. Técnicas de concentração não são normalmente necessárias, pois os vermes produzem grandes quantidades de ovos.

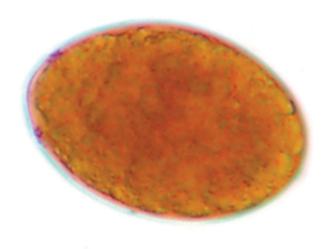


FIGURA 77-9 Ovo de *Diphyllobothrium latum*. Diferentemente dos ovos de outros cestoides, os ovos de *D. latum* são operculados. Eles medem $45 \times 90 \, \mu m$.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a niclosamida; o praziquantel e a paromomicina são alternativas aceitáveis. A suplementação de vitamina B_{12} pode ser necessária em pessoas com evidência clínica de deficiência de vitamina B_{12} . A prevalência dessa infecção é reduzida quando a ingestão de peixe insuficientemente cozido é evitada, o descarte de fezes humanas (em especial o tratamento apropriado de esgoto antes do descarte em lagos) é controlado e o tratamento imediato das infecções é realizado.

Esparganose

Fisiologia e Estrutura

As formas larvares de diversos cestoides proximamente relacionados com *D. latum* (na maioria de *Spirometra* spp.) podem produzir a doença humana em locais subcutâneos e no olho. Nesses casos, os humanos atuam como hospedeiro terminal para o estágio larvar ou **espargano**. As infecções são adquiridas primariamente por meio da ingestão de água de reservatórios ou canais, que contém crustáceos (copépodes) que carreiam a forma larvar da tênia. Esta penetra na parede intestinal e migra para vários locais no corpo, onde se desenvolve em espargano. As infecções podem também ocorrer se girinos, sapos e cobras forem ingeridos crus ou se a carne desses animais for aplicada a feridas como emplastro. A forma larvária dos vermes deixa a carne relativamente fria do animal morto e migra para a carne humana quente.

Epidemiologia

Casos foram relatados de várias partes do mundo, incluindo os Estados Unidos, mas a infecção é mais prevalente no Leste. Independentemente da localização, a ingestão de água contaminada e de carne crua de girino, sapo e cobra levam à infecção.

Síndromes Clínicas

Em locais subcutâneos, a **esparganose** pode produzir reações teciduais inflamatórias dolorosas e nódulos. No olho, a reação tecidual é intensamente dolorosa, e o edema periorbital é comum. Úlceras córneas podem se desenvolver com envolvimento ocular. A doença ocular está frequentemente associada ao uso da carne de sapo ou cobra como emplastro sobre um ferimento próximo ao olho.

Diagnóstico Laboratorial

Cortes de tecido removido cirurgicamente demonstram traços característicos de tênias, incluindo parênquima altamente convoluto e corpúsculos calcários de coloração escura.

Tratamento, Prevenção e Controle

A remoção cirúrgica é a abordagem costumeira. O fármaco praziquantel pode ser utilizado; entretanto, nenhum dado clínico sustenta sua eficácia. A educação acerca da possível contaminação de água para ingestão, por crustáceos que albergam vermes na forma larvar, é essencial, e a contaminação ocorre mais provavelmente em água de reservatórios e canais. A ingestão de carne crua de sapo ou cobra ou seu uso como emplastros sobre feridas também devem ser evitados.

Echinococcus granulosus

Fisiologia e Estrutura

A infecção por *Echinococcus granulosus* é outro exemplo da infecção humana acidental, com os humanos servindo como hospedeiro intermediário terminal no ciclo de vida, ocorrendo de maneira natural em outros animais. As tênias adultas de *E. granulosus* são encontradas naturalmente nos intestinos de caninos (cão, raposa, lobo, coiote, chacal, dingo); o estágio larvar de cisto está presente nas vísceras de herbívoros (ovinos, bovinos, suínos, cervos, alces americanos, alces) (Fig. 77-10). O verme consiste em um escólex semelhante ao da *Taenia*, com quatro ventosas e uma dupla fileira de acúleos, como um estróbilo contendo três proglotes: uma imatura, uma madura e uma grávida. Os cestoides adultos no intestino canino produzem ovos infectantes que são eliminados nas fezes. Os ovos são idênticos em aparência àqueles das espécies de *Taenia*. Quando são ingeridos por humanos, um estágio larvar de seis acúleos denominado **oncosfera** eclode. A oncosfera penetra na parede intestinal humana e entra na circulação para ser carreada a vários tecidos, primariamente o fígado e pulmões, mas também o sistema nervoso central e ossos. Esse mesmo ciclo ocorre nas vísceras dos herbívoros. Quando um deles é morto por um predador canino, ou a víscera é usada na alimentação dos caninos, a ingestão dos cistos produz tênias adultas no intestino canino, para completar o ciclo e iniciar nova produção de ovos. Tênias adultas não se desenvolvem nos intestinos dos herbívoros ou humanos.

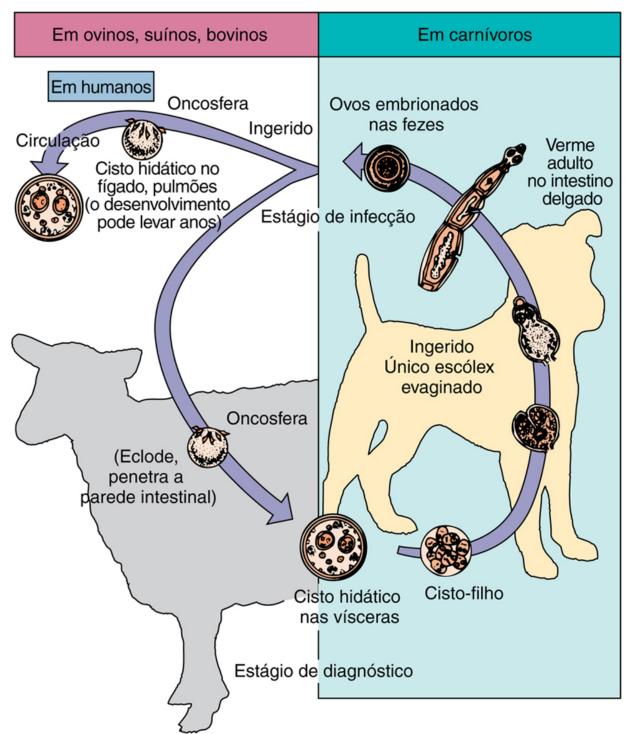


FIGURA 77-10 Ciclo biológico de Echinococcus granulosus.

Em humanos, a larva forma um cisto hidático unilocular, que é uma estrutura semelhante a um tumor, de crescimento lento e ocupante de espaço, e que está envolta por uma membrana germinativa laminada. Tal membrana produz estruturas em sua parede, denominadas cápsulas prolígeras, onde se desenvolvem as cabeças das tênias (protoescólices). Cistos-filhos podem se desenvolver no cisto-mãe original e também produzir cápsulas prolígeras e protoescólices. Os cistos e os cistos-filhos acumulam fluido à medida que crescem. Esse fluido é potencialmente tóxico; se entornado na cavidade corpórea, pode resultar em choque anafilático e morte. O derramamento e o escape de protoescólices podem levar ao desenvolvimento de cistos em outros locais, pois os protoescólices apresentam o potencial germinativo para formar novos cistos. Eventualmente, as cápsulas prolígeras e os cistos-filhos desintegram-se no interior do cisto-mãe, liberando os protoescólices acumulados. Isso é conhecido como areia hidática. Esse tipo de cisto do equinococos é denominado cisto unilocular, para diferenciá-lo dos cistos relacionados que crescem de forma diferente. O cisto unilocular possui em geral 5 cm de diâmetro, mas já foram relatados cistos tão grandes quanto com 20 cm, contendo cerca de 2 litros de fluido cístico. O cisto pode morrer e se tornar calcificado após longos períodos.

Epidemiologia

A infecção humana por cistos uniloculares de *E. granulosus* está diretamente relacionada com a criação de ovelhas em muitos países na Europa, América do Sul, África, Ásia, Austrália e Nova Zelândia. Ocorre no Canadá e nos Estados Unidos,

com casos relatados do Alasca, Utah, Novo México, Arizona, Califórnia e na porção inferior do vale do Mississipi. A infecção humana se segue à ingestão de água ou vegetação contaminadas, assim como a transmissão mão-boca de fezes canina transporta os ovos infectantes.

Síndromes Clínicas

Devido ao cisto unilocular crescer lentamente, 5 a 20 anos podem se passar antes do surgimento de qualquer sintoma. Em muitos casos, parece que o cisto é tão velho quanto seu hospedeiro. A pressão do cisto em expansão em um órgão é normalmente o primeiro sinal da infecção. Na maioria dos casos, os cistos estão localizados no fígado ou pulmão. No fígado, o cisto pode exercer pressão tanto nos ductos biliares como nos vasos sanguíneos e criar dor e ruptura biliar. Nos pulmões, os cistos podem produzir tosse, dispneia e dores torácicas (Caso Clínico 77-3). A ruptura dos cistos pode ocorrer em 20% dos casos, produzindo febre, urticária e ocasionalmente choque anafilático e morte, que são causados pela liberação de conteúdo antigênico do cisto. A ruptura do cisto também pode levar à disseminação da infecção, resultante da liberação de milhares de protoescólices. No osso, o cisto é responsável pela erosão da cavidade medular e do próprio osso. No cérebro, dano grave pode ocorrer como resultado do crescimento do cisto semelhante a um tumor para dentro do tecido cerebral.



Caso Clínico 77-3 Equinococose

Yeh et al. (N Engl J Med 357:489-494, 2007) descrevem uma gestante de 36 anos, com 21 semanas de gestação, que apresentou uma história de 4 semanas de tosse seca e não produtiva. A paciente negava qualquer sintoma constitucional, não possuía nenhum novo animal de estimação, exposições ambientais ou contato com doentes. Era a sua primeira gestação, e não havia complicações. Ela não possuía nenhuma condição médica e não fumava ou bebia álcool. Era uma consultora financeira e gostava de correr e fazer caminhadas. Viajou para a Austrália, Ásia Central e Africa subsaariana no passado. A paciente parecia bem, com apropriado ganho de peso para o segundo trimestre de gestação. Seu exame físico, incluindo ausculta dos pulmões, estava normal. Sua tosse não melhorou com o uso de um broncodilatador inalatório. Estudos de imagem não foram realizados, devido à sua gravidez. Teve um parto vaginal normal, não complicado, 4 meses depois. Continuou a apresentar tosse seca e consultou seu médico, meses após o parto, para uma reavaliação de sua tosse. Naquele momento, seu exame físico e estudos laboratoriais estavam sem alterações dignas de nota. Um exame radiográfico de tórax revelou uma massa de tecido mole, de 7 cm de diâmetro, adjacente à borda direita do coração. Exames de TC de alta resolução do tórax confirmaram a presença de uma estrutura homogênea e preenchida por fluido, sem septo, que parecia estar no mediastino. Uma ecocardiografia subsequente também confirmou uma estrutura cística simples, com paredes finas circundando um fluido livre de eco e que estava penetrando no átrio direito. Com base nos achados radiográficos e ecocardiográficos, os clínicos que cuidavam da paciente acharam que a massa era provavelmente um cisto pericárdico benigno. Como não estava apresentando dispneia, a paciente negou a ressecção cirúrgica. Entretanto, devido à piora da tosse nos meses subsequentes, ela consultou um cirurgião torácico para ressecção eletiva. Os achados intraoperatórios revelaram um cisto pulmonar intraparenquimatoso no pulmão direito, que não estava fixado ao pericárdio ou brônquios. O cisto foi removido intacto sem grande derramamento do conteúdo. A coloração da parede do cisto com hematoxilina e eosina, após o corte transversal, demonstrou uma camada laminada acelular. O exame microscópico do conteúdo do cisto demonstrou protoescólices com acúleos e ventosas em um fundo de histiócitos e restos eosinofílicos compatíveis com Echinococcus granulosus. A TC do abdome, após a remoção do cisto torácico, não revelou doença hepatobiliar. O exame pósoperatório em busca de anticorpos séricos contra Echinococcus foi positivo. O praziquantel foi administrado por 10 dias após a cirurgia e o albendazol por 1 mês após a cirurgia, sem complicações. Após esse curso de terapia, a paciente teve resolução de sua tosse e retornou ao seu nível normal de atividade. Não houve nenhuma evidência de doença recorrente no acompanhamento por TC 6 meses após a cirurgia.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da **doença hidática** é difícil e depende primariamente dos achados clínicos, radiográficos e sorológicos. O exame radiológico, procedimentos de varredura, TC e técnicas de ultrassonografia são todos válidos e podem proporcionar a primeira evidência da presença do cisto. A aspiração do conteúdo do cisto pode demonstrar a presença dos protoescólices (areia hidática); entretanto, é contraindicada devido ao risco de anafilaxia e disseminação da infecção. O teste sorológico pode ser útil, mas os resultados são negativos em 10% a 40% das infecções.

Tratamento, Prevenção e Controle

A ressecção cirúrgica do cisto é o tratamento de escolha. Em alguns casos, o cisto é primeiramente aspirado para remover o fluido e a areia hidática, e então é instilada formalina para matar e desentoxicar o fluido remanescente; por fim, ele é enrolado na forma de uma bolsa marsupial e suturado de modo a ficar fechado. Se a condição for inoperável devido à localização do cisto, a terapia médica com altas doses de albendazol, mebendazol ou praziquantel pode ser considerada. O fator mais importante na prevenção e controle da **equinococose** é a educação acerca da transmissão da infecção e o papel

dos caninos no ciclo de vida. A higiene pessoal adequada e a lavagem das mãos e utensílios de cozinha em ambientes habitados por cães são importantes. Não se deve permitir a presença de cães nas proximidades de matadouros de animais, e eles nunca devem ser alimentados com vísceras de animais abatidos. Em algumas áreas, a matança de cães errantes tem reduzido a incidência da infecção.

Echinococcus multilocularis

Fisiologia e Estrutura

Semelhante à infecção por *E. granulosus*, a infecção humana por *Echinococcus multilocularis* é acidental (Fig. 77-11). As tênias adultas de *E. multilocularis* são primariamente encontradas em raposas e lobos, apesar de cães e gatos de fazendas albergarem os vermes em alguns ambientes rurais. Os hospedeiros intermediários que albergam o estágio de cisto são roedores (camundongos, arganazes, musaranhos, lemingues). Os humanos se tornam infectados pelo estágio de cisto, como resultado do contato com fezes de raposas, cães ou gatos contaminadas por ovos. Caçadores e trabalhadores que manuseiam peles de animais podem se infectar por inalação da poeira fecal que carreia ovos.

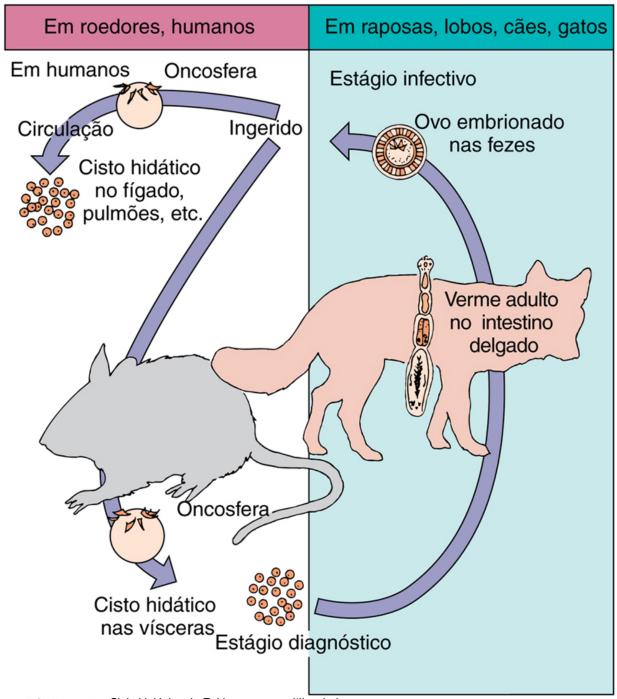


FIGURA 77-11 Ciclo biológico de Echinococcus multilocularis.

Ovos infectantes eclodem e penetram no trato intestinal para se tornarem oncosferas. Tais formas entram na circulação e fixam residência primariamente no fígado e pulmões, mas possivelmente também no cérebro.

O cisto hidático alveolar se desenvolve como uma estrutura alveolar ou em forma de colmeia, que não é recoberta por uma membrana laminada limitante unilocular do cisto-mãe. O cisto cresce via brotamento exógeno, eventualmente se assemelhando a um carcinoma.

Epidemiologia

Echinococcus multilocularis é encontrado primariamente nas áreas do norte, como o Canadá, a antiga União Soviética, o norte do Japão, a Europa Central e os estados americanos do Alasca, Montana, Dakota do Norte e do Sul, Minnesota e Iowa. Há evidência de que o ciclo de vida pode estar se estendendo para outros estados do meio-oeste, onde raposas e camundongos transmitem o organismo a cães e gatos e, de modo eventual, a humanos.

Síndromes Clínicas

Echinococcus multilocularis, devido ao seu crescimento lento, pode estar presente em tecidos humanos por muitos anos, antes do aparecimento de sintomas. No fígado, os cistos eventualmente se assemelham a um carcinoma, com aumento do fígado e obstrução das vias biliares e portais. Com frequência, o crescimento leva à metástase nos pulmões e cérebro. Desnutrição, ascite e hipertensão portal produzida por *E. multilocularis* criam a aparência de cirrose hepática. Dentre todas as infecções por vermes em humanos, *E. multilocularis* é um dos mais letais. Se a infecção é deixada sem tratamento, a taxa de mortalidade é de aproximadamente 70%.

Diagnóstico Laboratorial

Diferentemente do *E. granulosus*, a forma tecidual de *E. multilocularis* não apresenta protoescólices, e o material se assemelha tanto a uma neoplasia que mesmo os patologistas a confundem com carcinoma. Procedimentos radiológicos e técnicas de varredura são úteis, e métodos sorológicos estão disponíveis.

Tratamento, Prevenção e Controle

A remoção cirúrgica do cisto é indicada, especialmente se toda uma área hepática puder ser retirada. A mesma abordagem cirúrgica se aplica a lesões nos pulmões, onde um lobo pode ser retirado. O mebendazol e o albendazol, utilizados para o tratamento de *E. granulosus*, têm produzido curas clínicas. No caso de *E. granulosus*, são críticos a educação, a higiene pessoal adequada e o tratamento anti-helmíntico de cães e gatos de fazendas. É extremamente importante o tratamento de animais que tenham contato com crianças.

Hymenolepis nana

Fisiologia e Estrutura

Hymenolepis nana, a tênia anã, possui apenas 2 a 4 cm de comprimento, diferentemente dos organismos do gênero *Taenia*, que são muito grandes. Apesar de camundongos e besouros poderem estar infectados e participarem do ciclo de vida, este também é simples e não requer um hospedeiro intermediário (Fig. 77-12),

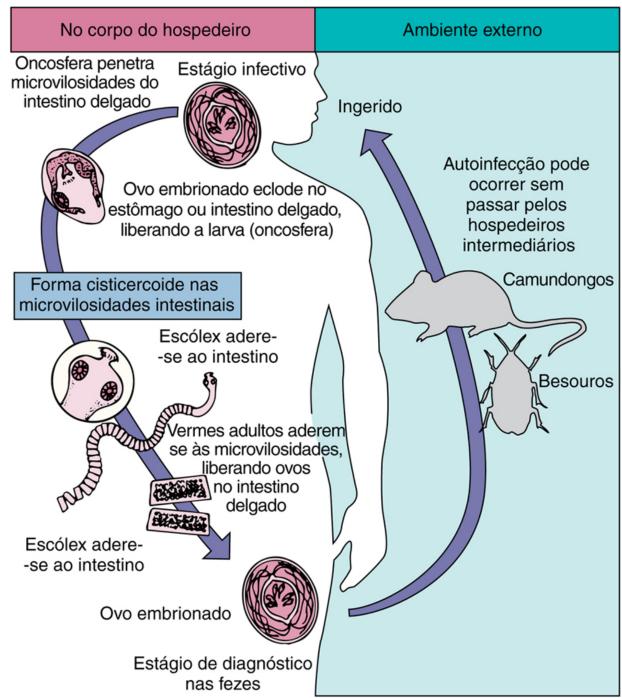


FIGURA 77-12 Ciclo biológico de Hymenolepis nana (tênia anã).

A infecção se inicia quando os ovos embrionados são ingeridos e se desenvolvem nas vilosidades intestinais em um estágio larvar de cisticercoide. Esta larva cisticercoide fixa suas quatro ventosas musculares e coroa de acúleos à parede do intestino delgado, e, pela maturação do verme adulto, produz um estróbilo de proglotes carregadas de ovos. Os ovos eliminados nas fezes são imediata e diretamente infectantes, iniciando um outro ciclo. A infecção também pode ocorrer por meio da ingestão de hospedeiros intermediários, insetos infectados.

Hymenolepis nana também pode causar autoinfecção, com um aumento subsequente da carga parasitária. Os ovos são capazes de eclodir no intestino, se desenvolver na larva cisticercoide e crescer para as formas adultas sem deixar o hospedeiro. Isso pode levar a uma hiperinfecção, com cargas parasitárias bastante altas e sintomas clínicos graves.

Epidemiologia

Hymenolepis nana ocorre mundialmente em humanos e é também um parasita comum de camundongos. A mais comum infecção por cestoide na América do Norte, ela ocasionalmente desenvolve seu estágio de cisticercoide em besouros; humanos e camundongos podem ingerir esses besouros em grãos e farinha contaminados. As crianças estão especialmente sob risco de infecção, e devido ao ciclo de vida simples do parasita, as famílias com crianças em creches experimentam problemas no controle da transmissão desse organismo.

Síndromes Clínicas

Com apenas alguns vermes no intestino, não há sintomas. Nas infecções maciças, em especial se a autoinfecção e hiperinfecção ocorrerem, os pacientes apresentam diarreia, dor abdominal, cefaleia, anorexia e outras queixas vagas.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela ovos característicos de *H. nana*, com um embrião contendo seis acúleos e filamentos polares (Fig. 77-13).

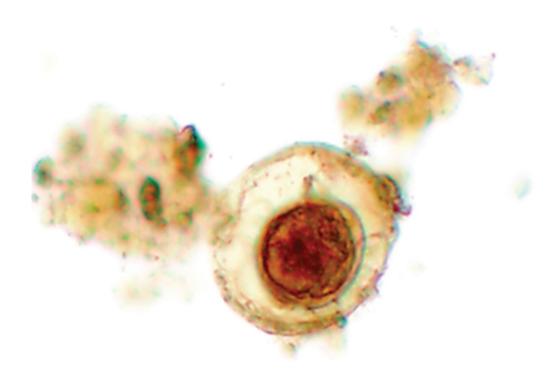


FIGURA 77-13 Ovo de *Hymenolepis nana*. Os ovos medem 30 a 45 μm de diâmetro e apresentam uma fina casca contendo um embrião com seis acúleos.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é o praziquantel; uma alternativa é a niclosamida. O tratamento dos casos, a melhora do saneamento e a higiene pessoal apropriada, especialmente nos ambientes familiares e institucionais, são essenciais para o controle da transmissão de *H. nana*.

Hymenolepis diminuta

Fisiologia e Estrutura

Hymenolepis diminuta, proximamente relacionado com H. nana, é primariamente uma tênia de ratos e camundongos, mas também é encontrado em humanos. Ele difere de H. nana em comprimento, medindo de 20 a 60 cm. O escólex não possui acúleos e os ovos são maiores, corados pela bile, e não apresentam filamentos polares (Fig. 77-14). O ciclo de vida de H. diminuta é mais complexo que o de H. nana e requer larvas de insetos ("vermes de alimentos") para alcançar o estágio infectante de cisticercoide.

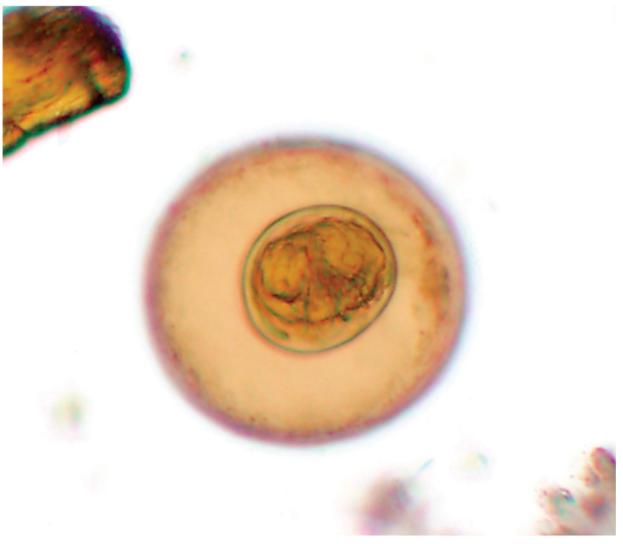


FIGURA 77-14 Ovo de *Hymenolepis diminuta*. Os ovos são grandes (70 a 85 µm × 60 a 80 µm) e possuem um embrião hexacanto circundado por uma membrana, que é largamente separada da casca externa.

Epidemiologia

As infecções têm sido encontradas em todo o mundo, incluindo os Estados Unidos. As larvas de besouros e outras larvas de insetos se tornam infectadas quando se alimentam de fezes de ratos que carreiam ovos de *H. diminuta*. Os humanos são infectados pela ingestão dessas larvas de insetos (vermes de alimentos) em produtos derivados de grãos contaminados (p.ex., farinha, cereais).

Síndromes Clínicas

Infecções brandas não produzem sintomas, mas cargas parasitárias maiores produzem náusea, desconforto abdominal, anorexia e diarreia.

Diagnóstico Laboratorial

O exame das fezes demonstra o ovo corado por bile característico, que não possui filamentos polares.

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a niclosamida, com o praziquantel sendo uma alternativa. É essencial o controle de roedores em áreas onde produtos derivados de grãos são produzidos ou estocados. Inspeções completas de produtos derivados de grãos não cozidos para detectar vermes de alimentos também são importantes.

Dipylidium caninum Fisiologia e Estrutura

Dipylidium caninum, um pequeno cestoide medindo cerca de 15 cm de comprimento, é primariamente um parasita de cães e gatos, mas pode infectar humanos, especialmente crianças cujas bocas sejam lambidas por animais infectados. O ciclo de

vida envolve o desenvolvimento de formas larvárias em pulgas de cães e gatos. Tais pulgas, quando esmagadas pelos dentes do cão infestado, são carreadas na língua para a boca da criança, quando esta beija o animal ou este lambe a criança. A ingestão de pulgas infectadas leva à infecção intestinal.

Devido ao tamanho e formato das proglotes maduras e terminais, *D. caninum* é frequentemente denominado **tênia em forma de semente de abóbora.** Os ovos são distintos, pois ocorrem em cápsulas recobertas por uma membrana rígida e nítida; pode haver em torno de 25 ovos em uma cápsula, e um único ovo livre da cápsula é raras vezes visto.

Epidemiologia

D. caninum ocorre mundialmente, em especial em crianças. Sua distribuição e transmissão estão diretamente correlacionadas com os cães e gatos infestados por pulgas.

Síndromes Clínicas

Infecções brandas são assintomáticas; cargas parasitárias maiores produzem desconforto abdominal, prurido anal e diarreia. O prurido anal resulta da migração ativa da proglote móvel.

Diagnóstico Laboratorial

O exame parasitológico das fezes revela as cápsulas ovígeras sem cor (Fig. 77-15), e proglotes podem estar presentes nas fezes trazidas pelos pacientes ao médico.

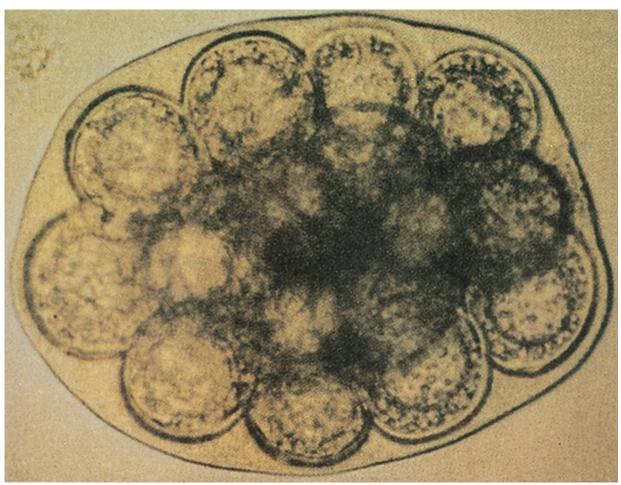


FIGURA 77-15 Ovos de *Dipylidium caninum*. Ovos livres são raramente visualizados. Ao contrário, as cápsulas ovígeras que contêm de oito a 15 oncosferas providas de seis acúleos, envoltas por uma fina membrana, são mais comumente visualizadas nas amostras fecais. (De Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, et al: *Manual of clinical microbiology*, ed 7, Washington, DC, 1999, American Society for Microbiology Press.)

Tratamento, Prevenção e Controle

O fármaco de escolha é a niclosamida; o praziquantel e a paromomicina são alternativas. Cães e gatos devem ser tratados com anti-helmínticos e não se deve permitir que lambam a boca de crianças. Os animais de estimação devem ser tratados para erradicar pulgas.

Referências Bibliográficas

Budke CM, Deplazes P, Torgenson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. Emerg Infect Dis. 2006;12:296–303.

Cabello FC. Salmon aquaculture and transmission of the fish tapeworm. Emerg Infect Dis. 2007;13:169–171.

Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:107–135.

Garcia HH, Jimenez JA, Escalante H. Cestodes. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Garcia HH, Evans CA, Nash TE, et al. Current consensus guidelines for treatment of neurocysticercosis. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:747–756.

Garcia LS. Diagnostic medical parasitology. ed 5 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2006.

John DT, Petri Jr WA. Markell and Voge's medical parasitology. ed 9 Philadelphia: Elsevier; 2006.

Scholz T, Garcia HH, Kuchta R, et al. Update on the human broad tapeworm (genus *Diphyllobothrium*), including clinical relevance. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22:146–160.

Sorvillo FJ, DeGiorgio C, Waterman SH. Deaths from cysticercosis, United States. Emerg Infect Dis. 2007;13:230–235.

CAPÍTULO 78

Artrópodes

Uma criança de 4 anos foi trazida por sua mãe com uma queixa de prurido nas mãos. A criança ficou em uma creche durante o dia enquanto a mãe trabalhava. A menina vinha apresentando intenso prurido e um exantema em suas mãos e braços por cerca de 2 semanas. O prurido se tornou mais forte, interferindo no sono da criança. Ao exame físico, ela parecia bem nutrida e bem cuidada. A pele de suas mãos, pulsos e antebraços tinha aparência vermelha e escoriada. Trilhas elevadas e serpiginosas foram notadas nas laterais de seus dedos, nos aspectos ventrais de seus pulsos e nas dobras poplíteas. Diversas trilhas estavam inflamadas e havia início de formação de pústulas. A mãe afirmou que várias outras crianças da creche estavam apresentando um problema semelhante.

- 1. Qual era o provável diagnóstico?
- 2. Como esse diagnóstico seria confirmado?
- 3. Como essa criança seria tratada e que conselho seria dado à mãe acerca de prevenção?
- 4. Essa criança necessita de antibioticoterapia? Se sim, por quê?
- 5. O que deveria ser feito acerca das outras crianças da creche?

As respostas a essas perguntas estão disponíveis em www.evolution.com.br.

Resumo

Organismos clinicamente significativos

Myriapoda

Palavras-gatilho

Centípedes, maxilípedes, Scolopendra, sais de Epsom, lixo

Biologia, Virulência e Doença

- Os Miriápodes (antigamente denominados Chilopoda) consistem em formas terrestres tais como os centípedes
- Os Centípedes são artrópodes traqueados, alongados, multissegmentados (de 15 a > 181 segmentos), com múltiplas pernas
- Relevantes do ponto de vista médico, devido às garras venenosas que podem produzir uma picada dolorosa com inchaço localizado
- A picada da maioria dos centípedes é inofensiva para o ser humano

Epidemiologia

- A maioria dos centípedes é predador insetívoro
- Encontrados em ambientes escuros e úmidos
- Contato humano quase sempre devido à exposição acidental durante atividades ao ar livre

Diagnóstico

• Observação macroscópica dos organismos típicos

Tratamento, Prevenção e Controle

- O tratamento da picada de um centípede inclui medidas locais (p.ex., compressas, sais de Epsom)
- O controle consiste na remoção do lixo próximo das habitações

Crustacea

Palavras-gatilho

Caranguejo, copépode, decápode, lagostins, hospedeiro intermediário, helminto intestinal

Biologia, Virulência e Doença

- Os Crustáceos incluem formas aquáticas familiares: decápodes (caranguejos, lagostins, camarão); copépodes (pulgas de água)
- Vários deles envolvidos como hospedeiros intermediários em ciclos de vida de vários helmintos intestinais ou sanguíneos

Epidemiologia

- Distribuição por todo o mundo
- Doenças helmínticas adquiridas através do consumo de água contaminada, da ingestão de carne do hospedeiro intermediário não cozida

Diagnóstico

• Identificação do parasita helmíntico específico

Tratamento, Prevenção e Controle

• Depende do parasita infeccioso

Chelicerata (Arachnida)

Palavras-gatilho

Aranha, escorpião, ácaro, carrapato, veneno, vetor

Biologia, Virulência e Doença

- Os Chelicerados (ou Quelicerados) (anteriormente designados por Araquinídeos) incluem formas terrestres familiares tais como ácaros, carrapatos, aranhas, escorpiões
- Os Quelicerados não possuem asas, nem antenas; os adultos possuem quatro pares de pernas
- Os ácaros e carrapatos constituem vetores para doenças microbianas; os escorpiões e algumas aranhas são relevantes, do ponto de vista médico, pelas picadas venenosas

Epidemiologia

- Aranhas: pilhas de madeira e arbusto, porões
- Escorpiões: Sudoeste dos Estados Unidos, México, Venezuela
- Ácaros: por todo o mundo
- Carrapatos: por todo o mundo em áreas rurais e florestais

Diagnóstico

- Morfologia macroscópica
- Diagnóstico clínico e laboratorial da infecção específica
- Reconhecimento do episódio de envenenamento

Tratamento, Prevenção e Controle

- Sintomático para as picadas
- Tratamento específico para a doença infecciosa
- Vestuário protetor, repelente de insetos, remoção de lixo nas imediações das habitações (no seu interior e exterior)

Hexapoda (Insetos)

Palavras-gatilho

Inseto, mosquito, mosca, pulga, vespa, reação local, vetor

Biologia, Virulência e Doença

- Classe de artrópodes mais extensa e importante
- Representa ≈ 70% de todas as espécies de animais conhecidas; inclui mosquitos, moscas, pulgas, piolhos, baratas, abelhas, vespas, escaravelhos, traças
- O corpo consiste em cabeça, tórax e abdome; um par de antenas, três pares de apêndices, um ou dois pares de asas ou ausência de asas
- A sua relevância médica varia, relacionando-se com as peças bucais e os hábitos alimentares, vetores e lesões mecânicas

Epidemiologia

• Distribuição por todo o mundo e extremamente variável

Diagnóstico

- Morfologia macroscópica
- Diagnóstico clínico e laboratorial da infecção específica

Tratamento, Prevenção e Controle

- Vestuário protetor, repelente de insetos
- Inseticidas, remoção do habitat
- Tratamento de suporte para a reação local à picada
- Remoção imediata dos carrapatos
- Terapêutica específica para a infecção

Os artrópodes correspondem ao maior dos filos animais, com mais de um milhão de espécies. O filo Arthropoda compreende animais invertebrados com corpo segmentado, diversos pares de apêndices articulados, simetria bilateral e um exoesqueleto quitinoso rígido que sofre muda periodicamente à medida que o animal cresce. Caracteristicamente, os artrópodes se desenvolvem de ovo a adulto por um processo conhecido como **metamorfose**. À medida que sofrem maturação, os organismos passam por diversos estágios morfológicos distintos, incluindo ovo, larva ou ninfa, pupa (alguns insetos) e adulto. Baseando-se no número ou gravidade da doença que causam, quatro subfilos (ou sub-*phylums*) de artrópodes são de importância médica: os Miriapoda, Crustacea, Chelicerata e Hexapoda (Insecta) (Tabela 78-1).



Tabela 78-1

Classes de Artrópodes de Importância Médica

Filo	Subfilo	Organismos
Arthropoda	Myriapoda	Centopeias
	Crustacea	Copépodes, decápodes (caranguejos, lagostins), pentastomídeos (vermes-língua)
	Chelicerata	Aranhas, escorpiões, ácaros, carrapatos
	Hexapoda (Insecta)	Moscas, mosquitos, piolhos, pulgas, hemípteras, insetos vesicantes

Os artrópodes, ou suas larvas, podem afetar a saúde humana de muitas maneiras. A maioria dos artrópodes atua indiretamente na doença humana; eles transmitem, mas não produzem a doença. Os artrópodes podem transmitir a doença mecanicamente, como quando moscas carreiam patógenos bacterianos entéricos das fezes para o alimento humano. De importância excepcional é a habilidade de muitos artrópodes em atuarem como vetores biológicos e hospedeiros intermediários na transmissão e ciclo de desenvolvimento de vírus, bactérias, protozoários e metazoários (Tabela 78-2). Certos artrópodes podem causar lesão direta por meio de suas picadas ou ferroadas. Outras espécies, como piolhos, ácaros de sarna e larvas invasoras de tecidos, podem atuar como parasitas verdadeiros. Outras espécies podem ainda funcionar tanto como parasitas quanto como vetores de doenças.

Seleção de Doenças Humanas Transmitidas por Artrópodes

Vetor Primário ou Hospedeiro Intermediário	Doença	Agente Etiológico
Chelicerata		
Ácaro: Leptotrombidium spp.	Tifo rural (doença de tsutsugamushi)	Orientia tsutsugamushi
Ácaro: Liponyssoides sanguineus	Riquetsiose vesicular	Rickettsia akari
Carrapato: Dermacentor spp.	Tularemia	Francisella tularensis
Carrapato: Dermacentor spp. e outros carrapatos ixodídeos	Febre Maculosa das Montanhas Rochosas	Rickettsia rickettsii
Carrapato: Dermacentor, Boophilus spp.	Febre Q	Coxiella burnetii
Carrapato: Dermacentor spp.	Febre do carrapato-do-colorado	Coltivirus
Carrapato: Ornithodoros spp.	Febre recorrente	Borrelia spp.
Carrapato: Ixodes spp.	Babesiose	Babesia microti
Carrapato: Ixodes spp.	Doença de Lyme	Borrelia burgdorferi
Carrapato: Dermacentor variabilis, Amblyomma americanum	Erliquiose	Ehrlichia chaffeensis
Crustacea		
Copépode: Cyclops spp.	Difilobotríase	Diphyllobothrium latum
Copépode: Cyclops spp.	Dracunculíase	Dracunculus medinensis
Caranguejo, lagostim: várias espécies de água doce	Paragonimíase	Paragonimus westermani
Hexapoda (Insecta)		
Piolho: Pediculus humanus	Tifo epidêmico	Rickettsia prowazekii
Piolho: Pediculus humanus	Febre das trincheiras	Bartonella quintana
Piolho: Pediculus humanus	Febre recorrente transmitida por piolho	Borrelia recurrentis
Pulga: Xenopsylla cheopis, várias outras pulgas de roedores	Peste	Yersinia pestis
Pulga: Xenopsylla cheopis	Tifo murino	Rickettsia typhi
Pulga: diversas espécies	Tênia do cão	Dipylidium caninum
Hemípteros: Triatoma, Panstrongylus spp.	Doença de Chagas	Trypanosoma cruzi
Besouros: besouro da farinha	Tênia anã	Hymenolepis nana
Mosca: Glossina spp. (moscas tsé-tsé)	Tripanossomíase africana	Trypanosoma brucei rhodesiense e T. b. gambiense
Inseto, simulídeo: Simulium spp.	Oncocercíase	Onchocerca volvulus
Inseto: Chrysops spp.	Tularemia	Francisella tularensis
Inseto, flebotomíneo: <i>Phlebotomus</i> spp. e <i>Lutzomyia</i> spp. (mosquito-palha)	Leishmaniose	Leishmania spp.
Inseto, flebotomíneo: Phlebotomus spp.	Bartonelose	Bartonella bacilliformis
Mosquito: Anopheles spp.	Malária	Plasmodium spp.
Mosquito: Aedes aegypti	Febre amarela	Flavivirus
Mosquito: Aedes spp.	Dengue	Flavivirus
Mosquito: Culiseta melanura, Coquillettidia perturbans, Aedes vexans	Encefalite equina do leste	Alphavirus
Mosquito: Aedes triseriatus	Encefalite de La Crosse	Bunyavirus
Mosquito: Culex spp.	Encefalite de St. Louis	Flavivirus
Mosquito: Culex spp.	Encefalite equina venezuelana	Alphavirus
Mosquito: Culex tarsalis	Encefalite equina do oeste	Alphavirus

Vetor Primário ou Hospedeiro Intermediário	Doença	Agente Etiológico
Mosquito: diversas espécies	Filaríase bancroftiana	Wuchereria bancrofti
Mosquito: diversas espécies	Filaríase malaiana	Brugia spp.
Mosquito: diversas espécies	Dirofilaríase	Dirofilaria immitis

Não é o propósito deste capítulo considerar a entomologia médica em detalhes. Ao contrário, nosso objetivo é fornecer uma breve visão geral dos mais importantes aspectos dos artrópodes e sua relação com a doença humana. Informações mais detalhadas acerca de artrópodes de importância médica e da terapia e controle das infestações por artrópodes podem ser encontradas nas referências listadas nas Referências Bibliográficas.

Myriapoda

Centopeias

Fisiologia e Estrutura

As centopeias são artrópodes alongados, multissegmentados (15 a >181 segmentos), com muitas patas e traqueados. Elas possuem cabeça e tronco distintos. O corpo é achatado dorsoventralmente e cada segmento do tronco alberga um único par de patas. Os **maxilípedes**, ou garras venenosas, estão situados no primeiro segmento e são utilizados para captura da presa. Os milípedes são algumas vezes classificados como centopeias; entretanto, os milípedes não apresentam as garras venenosas das centopeias e têm dois pares de pernas por segmento.

Epidemiologia

A maioria das centopeias é predadora insetívora e é comumente encontrada em ambientes escuros e úmidos, como áreas abaixo de toras, entre o lixo e no interior de prédios antigos. As picadas humanas são quase invariavelmente resultantes de exposição acidental ao organismo durante atividades ao ar livre.

Síndromes Clínicas

A picada da centopeia pode ser extremamente dolorosa e causar edema no local da picada. Relatos dos efeitos de picadas de centopeias em humanos são conflitantes. Uma espécie, *Scolopendra gigantea*, encontrada nas Américas Central e do Sul e nas Ilhas Galápagos, já causou diversas mortes relatadas. Com exceção de *Scolopendra* e gêneros tropicais relacionados, a picada da maioria das centopeias é inofensiva aos humanos.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento de uma picada de centopeia inclui medidas locais como a aplicação de compressas de bicarbonato de sódio ou soluções de sais de Epsom. O controle consiste na remoção de lixo próximo a residências.

Crustacea

Os crustáceos são artrópodes que respiram primariamente por brânquias e podem ser de água doce e salgada. Aqueles de importância médica são encontrados na água doce e servem como hospedeiros intermediários de diversos vermes, ou como endoparasitas (pentastomídeos ou vermes-língua) de répteis, aves e mamíferos, incluindo humanos (Tabela 78-2).

Os copépodes, ou pulgas da água, são representados pelos gêneros *Cyclops* e *Diaptomus*. Os grandes crustáceos, denominados de **decápodes**, incluem caranguejos e lagostins. Estes também servem como segundos hospedeiros intermediários do trematódeo pulmonar *Paragonimus westermani* (Tabela 78-2).

Copépodes

Fisiologia e Estrutura

Os copépodes são organismos aquáticos pequenos e simples. Eles não possuem carapaça, apresentam um par de maxilas e têm cinco pares de patas birramosas para natação. Existem formas livres e parasitárias. Os gêneros *Diaptomus* e *Cyclops* possuem importância médica.

Os copépodes são hospedeiros intermediários no ciclo de vida de diversos parasitas humanos, incluindo *Dracunculus medinensis* (dracunculíase), *Diphyllobothrium latum* (difilobotríase), *Gnathostoma spinigerum* (gnatostomíase) e *Spirometra* spp. (esparganose). Os copépodes foram associados a um único caso de abscesso perirretal, mas geralmente não são considerados uma causa primária de infecção humana.

Epidemiologia

Os copépodes têm distribuição cosmopolita e servem como hospedeiros intermediários para doenças por helmintos nos Estados Unidos e Canadá, assim como na Europa e nos trópicos. A infecção humana por esses helmintos parasitas resulta da ingestão de água contaminada por copépodes ou da ingestão de carne crua ou malcozida de peixes infectados. Pseudoepidemias de copépodes presentes em amostras de fezes humanas, submetidas a exame em busca de ovos e

parasitas, foram relatadas em Nova York. Em torno 40% das amostras fecais submetidas à técnica de concentração no exame parasitológico de fezes continham copépodes, presumivelmente como resultado da contaminação do abastecimento de água de um hospital. O único caso relatado de infecção humana aparente por copépodes ocorreu nesse hospital.

Síndromes Clínicas

Os sinais e sintomas clínicos associados às infecções helmínticas, em que os copépodes servem como hospedeiros intermediários, estão descritos nos Capítulos 75 e 77. O único caso de infecção humana aparente por copépodes ocorreu em um homem de 22 anos com doença de Crohn e que apresentou um abscesso perirretal. A drenagem do abscesso revelou material purulento que, ao exame microscópico, continha numerosos copépodes circundados por leucócitos. Foi feita a hipótese de que os copépodes penetraram em lesões perirretais preexistentes durante banhos de assento, os quais foram preparados com a água proveniente da torneira, não filtrada e que poderiam conter copépodes. Apesar de os copépodes contidos no interior do material do abscesso serem viáveis e poderem estar se alimentando de tecido corpóreo de forma eficaz, acreditou-se que provavelmente não eram a causa primária do abscesso.

Diagnóstico Laboratorial

Os diagnósticos laboratoriais das infecções helmínticas, nas quais os copépodes servem como hospedeiros intermediários, são descritos nos Capítulos 75 e 77. Em geral, a infecção é demonstrada pela detecção do organismo infectante por meio de exame microscópico do material clínico.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento específico das infecções helmínticas associadas aos copépodes é discutido nos Capítulos 75 e 77. A prevenção de tais infecções requer atenção às medidas-padrão de saúde pública, como a cloração e filtração da água e cozimento completo de todos os peixes. Pessoas infectadas não devem se banhar em águas utilizadas para ingestão, e águas suspeitas devem ser evitadas.

Decápodes

Os decápodes incluem os pitus, camarões, lagostas, lagostins e caranguejos. O cefalotórax desses animais é sempre recoberto por uma carapaça. Eles possuem três pares anteriores de apêndices torácicos, que são modificados em maxilípedes birramosos; e cinco pares posteriores, que são desenvolvidos em pernas unirramosas. Caranguejos e lagostins são importantes para a medicina como segundos hospedeiros intermediários do trematódeo pulmonar *P. westermani*. Os aspectos parasitários, epidemiológicos e clínicos da infecção por *P. westermani* são descritos no Capítulo 76. O cozimento completo dos caranguejos e lagostins é a forma mais eficaz de prevenir a infecção por *P. westermani*.

Pentastomida

Vermes-Língua

Os pentastomídeos, ou **vermes-língua**, são endoparasitas hematófagos de répteis, aves e mamíferos. Seu estado taxonômico é incerto. Alguns cientistas incluem os pentastomídeos entre os artrópodes, pois suas larvas superficialmente se assemelham àquelas dos ácaros. Outros os consideram como anelídeos e ainda outros os colocam em um filo totalmente separado. Para o propósito desta discussão, eles serão considerados como artrópodes. De acordo com estudos moleculares, os Pentastomida são hoje em dia considerados, por alguns especialistas, como sendo uma subclasse dentro dos Crustacea.

Fisiologia e Estrutura

Os pentastomídeos são artrópodes degenerados, vermiformes, que vivem principalmente nas vias nasais e respiratórias de répteis, aves e mamíferos. Os pentastomídeos adultos são parasitas esbranquiçados, cilíndricos ou achatados, que possuem duas regiões corpóreas distintas: uma cabeça anterior, ou cefalotórax, e um abdome. Os adultos são alongados e podem atingir um comprimento de 1 a 10 cm. A cabeça possui uma boca e dois pares de ganchos. Embora o abdome possa parecer anelado, ele não é segmentado (Fig. 78-1). Os pentastomídeos possuem órgãos reprodutivos e digestivos; entretanto, os sistemas circulatório e respiratório estão ausentes.

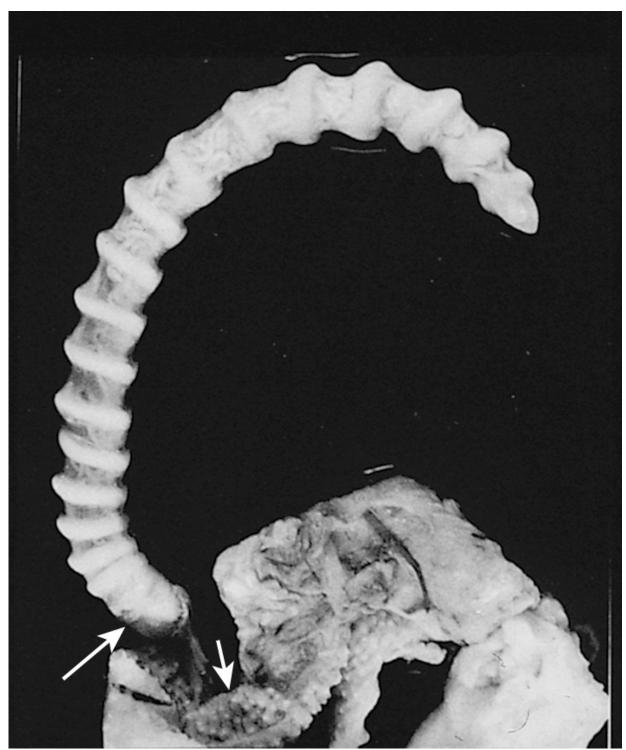


FIGURA 78-1 Fêmea adulta de um pentastomídeo (*Armillifer armillatus*) fixada à superfície respiratória do pulmão (*seta curta*) de uma cobra de rochas. Note o pequeno cefalotórax (*seta longa*) e um abdome longo e anelado. (De Binford CH, Connor DH: *Pathology of tropical and extraordinary diseases*, vol 2, Washington, DC, 1976, Armed Forces Institute of Pathology.)

Os pentastomídeos adultos são encontrados nos pulmões de répteis (*Armillifer armillatus* e *Porocephalus crotali*) e nas vias nasais de mamíferos (*Lingulata serrata*). Muitos vertebrados, incluindo humanos, podem servir como hospedeiros intermediários. Os ovos embrionados são eliminados nas fezes ou secreções respiratórias de hospedeiros definitivos infectados e contaminam vegetação ou água, que é então ingerida por um dos diversos hospedeiros intermediários possíveis (peixes, roedores, cabras, ovelhas ou humanos). Os ovos eclodem no intestino, e o primeiro estágio larvar penetra na parede intestinal e se fixa ao peritônio. A larva sofre maturação no peritônio e se desenvolve em larva infectante, encistase nas vísceras, ou morre e se torna calcificada. Nos cortes teciduais, as larvas encistadas podem ser identificadas por glândulas acidófilas, uma cutícula quitinosa e ganchos proeminentes, que estão presentes na porção anterior do organismo. Glândulas subcuticulares e fibras musculares estriadas também podem ser observadas abaixo da cutícula.

Os humanos também podem se infectar pela ingestão de carne cozida de maneira inadequada proveniente de répteis ou outros hospedeiros definitivos infectados, ou pela ingestão de carne de hospedeiros intermediários infectados (p.ex., cabras, ovelhas) contendo larvas infectantes. No último caso, a larva infectante migra do estômago para os tecidos nasofaríngeos,

onde se desenvolve em pentastomídeo adulto e produz os sintomas da **síndrome halzoun** (veja a seção de Síndromes Clínicas). Nesse caso, o hospedeiro humano é considerado um hospedeiro definitivo temporário.

Epidemiologia

A maioria das infecções pelos pentastomídeos é relatada na Europa, África e Américas Central e do Sul. A infecção é comum na Malásia, onde os estudos por meio de autópsias revelaram **pentastomíase** em até 45% das pessoas. Como anteriormente descrito, a infecção é adquirida pela ingestão de vegetais crus ou água contaminada com ovos de pentastomídeos, ou pelo consumo de carne crua ou malcozida de animais infectados.

Síndromes Clínicas

Na maioria dos casos, a infecção é assintomática e é descoberta acidentalmente durante exame radiológico (larvas calcificadas), cirurgia ou autópsia. Pneumonite, pneumotórax, peritonite, meningite, nefrite e icterícia obstrutiva já foram atribuídas a infecções por pentastomídeos; todavia, uma prova definitiva de uma relação causal entre a doença e a presença do parasita é com frequência ausente. A infecção localizada do olho já foi relatada, presumivelmente secundária à inoculação direta.

A **síndrome halzoun**, causada pela fixação dos pentastomídeos adultos aos tecidos nasofaríngeos, é caracterizada por desconforto faríngeo, tosse paroxística, espirros, disfagia e vômito. A asfixia é raras vezes relatada.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico é feito por meio da identificação de um pentastomídeo em uma amostra de biópsia obtida durante cirurgia ou autópsia. Ocasionalmente, larvas calcificadas podem ser observadas em filmes radiográficos do abdome ou tórax, proporcionando um diagnóstico presuntivo. Não existem testes sorológicos úteis.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento não é normalmente garantido. Em pacientes sintomáticos, a remoção cirúrgica de parasitas livres ou encistados deve ser tentada. Medidas preventivas incluem cozinhar completamente carne e vegetais e evitar água contaminada.

Chelicerata (Arachnida)

Aranhas

As aranhas têm uma variedade de traços característicos que permitem uma fácil identificação. De modo específico, elas possuem oito patas, não possuem antenas, o corpo é dividido em duas regiões (cefalotórax e abdome), e um abdome não segmentado com fiandeiras localizadas posteriormente. Todas as aranhas verdadeiras produzem veneno e matam suas presas por meio da picada; contudo, poucas possuem presas (quelíceras) poderosas o suficiente para perfurar a pele humana, ou veneno potente o suficiente para produzir mais que uma irritação local transitória na pele. As aranhas venenosas podem ser classificadas como as que causam aracnidismo sistêmico e aquelas que causam aracnidismo necrótico. Essa classificação baseia-se no tipo de dano tecidual produzido.

O aracnidismo sistêmico é primariamente causado por tarântulas e viúvas-negras. As tarântulas (família *Theraphosidae*) são aranhas grandes e peludas dos trópicos e subtrópicos. As tarântulas são de pouca importância, pois não são muito agressivas e evitam as habitações humanas. Sua picada causa dor intensa e uma fase de agitação, seguida de estupor e sonolência. A viúva-negra, *Latrodectus mactans*, está dispersa ao longo do sul e oeste dos Estados Unidos. Espécies relacionadas ao gênero *Latrodectus* são encontradas ao longo de regiões temperadas e tropicais de todos os continentes, mas nenhuma é primariamente doméstica; portanto, seu contato com humanos é limitado.

O aracnidismo necrótico é produzido por aranhas que pertencem ao gênero *Loxosceles*. As picadas dessas aranhas podem produzir reações teciduais graves. A *Loxosceles reclusa*, a aranha-marrom, é deste gênero que é de importância médica.

Viúvas-negras

Fisiologia e Estrutura

A fêmea da viúva-negra (*L. mactans*) é facilmente reconhecida pela presença de um abdome globoso, negro e brilhoso, albergando a característica marcante em forma de ampulheta laranja ou avermelhada na superfície ventral (Fig. 78-2). As fêmeas variam de 5 a 13,5 mm em comprimento, mas os machos são muito menores.



FIGURA 78-2 Fêmea de uma aranha viúva-negra (Loxosceles mactans). (De Peters W, Pasvol G: Color atlas of tropical medicine and parasitology, ed 6, London, 2007, Mosby.)

O veneno da viúva-negra é uma potente neurotoxina periférica, que é liberada por um par de estruturas semelhantes a pinça, ou quelíceras. Apenas as fêmeas das aranhas *Latrodectus* são perigosas aos humanos; os machos são pequenos e franzinos, tendo uma picada ineficaz.

Epidemiologia

Essas aranhas frequentam pilhas de madeira e galhos, prédios velhos de madeira, celeiros, toras ocas e banheiros. Devido a tais localizações, a picada é frequentemente localizada na genitália, nádegas ou extremidades. As viúvas-negras são comuns no sudoeste dos Estados Unidos, mas são encontradas ao longo de regiões temperadas e tropicais tanto do Novo como do Velho Mundo.

Síndromes Clínicas

Como é verdadeiro na maioria dos casos de envenenamento, o quadro clínico depende de fatores, como a quantidade de veneno injetada, a localização da picada, bem como a idade, peso e sensibilidade do paciente. Logo após a picada, ocorre uma dor aguda, mas pouco ou nenhum edema imediato. Isso é seguido de vermelhidão local, edema e queimação. Sinais e sintomas sistêmicos quase sempre ocorrem dentro de 1 hora após a picada e incluem câimbras musculares, dores torácicas, náusea, vômito, diaforese, espasmos intestinais e dificuldades visuais. Câimbras tetânicas abdominais produzindo um abdome "em tábua" são altamente características e podem imitar um abdome agudo cirúrgico. Os sintomas agudos normalmente diminuem dentro de 48 horas; entretanto, nos casos graves, a paralisia e o coma podem preceder insuficiência cardíaca ou respiratória. A mortalidade devido à picada da viúva-negra é estimada em 4% a 5%.

Tratamento, Prevenção e Controle

Adultos saudáveis via de regra se recuperam, mas crianças pequenas ou pessoas enfraquecidas sofrem consideravelmente com essas picadas e podem morrer se não forem tratadas. Os espasmos musculares podem ser fortes e necessitar de administração intravenosa de gluconato de cálcio ou outros agentes relaxantes musculares. Um antiveneno específico está disponível e permanece o tratamento de escolha. Ele é válido se for administrado logo após a picada. Por ser preparado com soro de equinos hiperimunizados, os pacientes devem ser testados para sensibilidade ao soro equino antes da administração. A hospitalização é recomendada para o cuidado de pessoas com picada suspeita ou reconhecida.

Uma boa limpeza da casa pode ser o controle mais simples e eficaz para aranhas em casas. Isso inclui a limpeza de teias e a remoção cuidadosa de entulhos ao redor das casas e galpões adjacentes. As crianças devem ser desencorajadas a brincar em pilhas e em galpões de madeira.

Aranha-marrom

Aranhas que produzem araquinidismo necrótico pertencem ao gênero *Loxosceles*. Essas aranhas são de coloração amarela a marrom, de tamanho médio (5 a 10 mm de comprimento) e com patas relativamente longas (Fig. 78-3). Elas comumente exibem duas características distintivas: uma marca escura em forma de violino na parte dorsal do cefalotórax e seis olhos dispostos em três pares, formando um semicírculo. O veneno injetado pela fêmea ou macho é uma necrotoxina (que também pode ter propriedades hemolíticas) e causa lesões necróticas com danos teciduais profundos.



FIGURA 78-3 Fêmea de uma aranha-marrom (Loxosceles laeta). (De Peters W, Pasvol G: Color atlas of tropical medicine and parasitology, ed 6, London, 2007, Mosby.)

Epidemiologia

Quatro espécies do gênero *Loxosceles* são encontradas nas Américas. *L. reclusa* é encontrada no sul e centro dos Estados Unidos, *L. arizonica* ocorre nos estados do oeste, e *L. laeta* na América do Sul. A *L. reclusa* é encontrada ao ar livre em pilhas de madeira e entulhos, em climas quentes, e em porões ou áreas de armazenamento em regiões mais frias. A *L. laeta* é encontrada em armários e cantos dos cômodos. Os humanos são picados apenas quando a aranha é ameaçada ou perturbada.

Síndromes Clínicas

De início, a picada das espécies do gênero *Loxosceles* tende a ser indolor; entretanto, várias horas depois, prurido, edema e dor podem se desenvolver na área da picada. Frequentemente, uma vesícula ou bolha pode se formar no local. Sintomas sistêmicos gerais não são comuns, mas quando presentes podem incluir calafrios, cefaleia e náusea. Dentro de 3 a 4 dias, a bolha se rompe e pode ser seguida de ulceração e necrose irradiante, que não se curam, mas continuam a se espalhar por semanas ou meses.

Coagulação e hemólise intravascular podem ocorrer, acompanhadas de hemoglobinúria e insuficiência cardíaca e renal. Essa síndrome hemolítica pode ser ameaçadora à vida e ocorre mais comumente após a picada de *L. laeta*. Na América do Sul, tal síndrome é conhecida como **loxoscelismo visceral**.

Diagnóstico

A discriminação de uma espécie de aranha não é possível a partir da aparência da lesão, apenas; porém, um diagnóstico funcional é comumente baseado na aparência da formação da bolha ao redor das marcas de perfuração e na natureza da lesão em desenvolvimento. Deve-se notar que as lesões dérmicas necróticas são com frequência classificadas como

loxoscelismo, mesmo no caso das espécies em questão não serem conhecidas por estarem presentes na área. A aranha pode ser identificada facilmente pelos traços característicos previamente descritos. Um ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA) foi desenvolvido para confirmar o diagnóstico de picada por aranha-marrom, mas não está amplamente disponível.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento da picada por aranha-marrom é variável e baseia-se na gravidade da reação necrótica. A maioria das picadas nos Estados Unidos é inconsequente e não necessita de terapia específica. A limpeza da ferida e a administração de profilaxia antitetânica e antibióticos, para prevenir infecção secundária, também podem ser indicadas. A cicatrização geralmente não é complicada, e o desbridamento ou excisão não devem ser realizados por 3 a 6 semanas para permitir que a cicatrização natural se inicie. A excisão e o enxerto de pele podem ser necessários para picadas que não tenham cicatrizado em 6 a 8 semanas. A terapia sistêmica com corticosteroides pode ser útil no tratamento da síndrome hemolítica, mas é de pouco valor comprovado na prevenção ou tratamento de necrose cutânea. Apesar de não disponível nos Estados Unidos, um antiveneno é utilizado na América do Sul para o tratamento do loxoscelismo visceral.

Medidas preventivas são semelhantes às recomendadas para as viúvas-negras. As aranhas *Loxosceles* (e outras) podem ser controladas em residências com componentes inseticidas.

Escorpiões

Fisiologia e Estrutura

O escorpião típico é alongado, com garras (ou pedipalpos) conspícuas semelhantes a pinças localizadas na porção anterior do corpo, quatro pares de patas adaptadas para locomoção, e um abdome nitidamente organizado, que diminui de espessura para formar um ferrão curvo, oco e semelhante a uma agulha (acúleo) (Fig. 78-4). Quando o escorpião é perturbado, ele utiliza seu ferrão para defesa. Os escorpiões machos e fêmeas podem ferroar. O veneno é injetado através do ferrão a partir de duas glândulas no abdome. A maioria dos escorpiões é incapaz de penetrar a pele humana ou injetar veneno suficiente para causar dano real; poucas espécies são capazes de causar ferimentos dolorosos que podem levar à morte.



FIGURA 78-4 Escorpião (*Centruroides* spp.). (De Peters W: A colour atlas of arthropods in clinical medicine, London, 1992, Wolfe; cortesia do Dr. J.C. Cokendolpher.)

Epidemiologia

Os escorpiões considerados perigosos podem ser encontrados no sudoeste dos Estados Unidos, México e Venezuela. Isso inclui diversas espécies do gênero *Centruroides*, que são responsáveis por cerca de 1.000 mortes anualmente. Também são importantes várias espécies de *Tityus*, encontradas em Trinidad, Argentina, Brasil, Guiana e Venezuela. Crianças abaixo de 5 anos são mais propensas a serem fatalmente ferroadas por escorpiões.

Os escorpiões são noturnos e durante o dia permanecem escondidos sob toras, rochas e outros lugares escuros e úmidos. Eles invadem habitações humanas durante a noite, onde podem se esconder em tênis, toalhas, roupas e armários.

Síndromes Clínicas

O efeito de uma ferroada de escorpião em um paciente é altamente variável e depende de fatores, como a espécie e idade do escorpião, o tipo e a quantidade de veneno injetado, e a idade, tamanho e sensibilidade da pessoa que foi ferroada. Ainda que o ferrão de muitos escorpiões seja relativamente não tóxico e produza apenas sintomas locais, outras ferroadas podem ser bastante sérias. Os escorpiões produzem dois tipos de veneno: uma neurotoxina e uma toxina hemorrágica ou hemolítica. A toxina hemolítica é responsável por reações locais no sítio da ferroada, incluindo dor irradiante e queimação, edema, descoloração e necrose. A neurotoxina produz reação local mínima, mas, por outro lado, produz efeitos sistêmicos graves, incluindo calafrios, diaforese, salivação excessiva, dificuldade de fala e deglutição, espasmo muscular, taquicardia e convulsões generalizadas. Em casos graves, a morte pode resultar de edema pulmonar e paralisia respiratória.

Diagnóstico

Sinais e sintomas locais ou sistêmicos acoplados à evidência física de um único ponto de penetração na pele são via de regra suficientes para estabelecer o diagnóstico. O paciente pode ter observado o escorpião ou trazido este para a identificação. Apesar de os escorpiões serem relativamente fáceis de identificar, é importante entender que outros aracnídeos não venenosos se assemelham muito aos escorpiões. Um entomologista ou parasitologista deve ser consultado se houver alguma dúvida taxonômica.

Tratamento, Prevenção e Controle

O manejo das ferroadas de escorpiões varia. Na ausência de sintomas sistêmicos, o tratamento paliativo sozinho pode ser necessário. A dor pode ser aliviada pelo uso de analgésicos ou injeção local de lidocaína (Xilocaína®); todavia, os opiatos parecem aumentar a toxicidade. A crioterapia local pode reduzir o edema e retardar a absorção sistêmica da toxina. Bolsas quentes produzem vasodilatação e podem acelerar a distribuição da toxina sistemicamente, e, portanto, são contraindicadas. O antiveneno está disponível e é eficaz se administrado logo após a ferroada. A antivenina é, em geral, específica da espécie e sem a identificação do agente da picada, seria administrada com base na presunção da espécie, de acordo com as espécies mais comuns na área. Crianças muito pequenas com sintomas sistêmicos devem ser tratadas como emergências médicas. Sintomas sistêmicos e choque devem receber tratamento de suporte.

Medidas preventivas incluem o uso de pesticidas químicos para reduzir as populações de escorpiões. A remoção de entulhos ao redor de residências pode reduzir os locais de esconderijo e reprodução.

Ácaros

Os ácaros são artrópodes pequenos, de oito patas, caracterizados por um corpo globoso e sem antenas. Um grande número de espécies de ácaros é de vida livre, ou está normalmente associado a outros vertebrados (p.ex., aves, roedores) e pode causar dermatite em humanos em raras ocasiões. O número de ácaros que são considerados parasitas humanos verdadeiros, ou representam problemas médicos reais, é bastante pequeno e inclui os ácaros dos ratos domésticos (*Liponyssoides sanguineus*), o ácaro da sarna humana (*Sarcoptes scabiei*), o ácaro do folículo humano (*Demodex folliculorum*) e os ácaros trombiculídeos (*Leptotrombidium deliense* ou *L. akamushi*). Os ácaros afetam humanos de três maneiras: causando dermatite, servindo como vetores de doenças infecciosas e atuando como fonte de alérgenos.

Ácaros da Sarna

Fisiologia e Estrutura

O ácaro da sarna (*S. scabiei*) causa uma doença infecciosa de pele variavelmente conhecida como **escabiose, sarna ou coceira**. Os ácaros adultos têm em média 300 a 400 µm de comprimento, com um corpo oval e globoso no qual o primeiro e segundo pares de patas são amplamente separados do terceiro e quarto pares (Fig. 78-5). O corpo possui estrias paralelas transversais, espinhos e cerdas dorsais. O ovo mede de 100 a 150 µm.

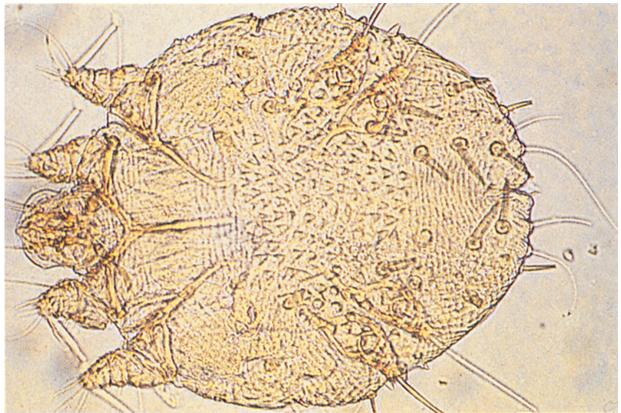


FIGURA 78-5 Ácaro de sarna (Sarcoptes spp.). (De Peters W, Pasvol G: Color atlas of tropical medicine and parasitology, ed 6, London, 2007, Mosby.)

Os ácaros adultos penetram na pele, criando galerias serpiginosas nas camadas superiores da epiderme. A fêmea do ácaro deposita seus ovos nas galerias da pele, e os estágios de larva e ninfa que se desenvolvem também se enterram na pele. As fêmeas dos ácaros vivem e depositam ovos e fezes nas galerias da epiderme por até 2 meses. Caracteristicamente, os locais preferenciais de infestação são as dobras interdigitais e poplíteas, as regiões do pulso e inguinal, e as dobras inframamárias. A presença de ácaros e suas secreções causa intenso prurido das áreas envolvidas. O ácaro é um parasita obrigatório e pode perpetuar sua espécie indefinidamente em um único hospedeiro.

Epidemiologia

A escabiose tem distribuição cosmopolita, com uma prevalência global estimada de cerca de 300 milhões de casos. O ácaro é um parasita obrigatório de animais domésticos e humanos; contudo, pode sobreviver por horas a dias fora do hospedeiro, facilitando sua dispersão. A transmissão ocorre pelo contato direto ou com objetos contaminados, como roupas. A transmissão sexual já foi bem documentada. A dispersão da infestação para outras áreas do corpo é realizada através da coceira e transferência manual do ácaro pela pessoa afetada. A escabiose pode ocorrer de maneira epidêmica entre pessoas em condições de aglomeração, como creches, asilos, campos militares e prisões.

Síndromes Clínicas

O sintoma clínico diagnóstico destacável é o intenso prurido, via de regra nas dobras interdigitais e laterais dos dedos, nádegas, genitália externa, pulsos e cotovelos. As lesões não complicadas aparecem como galerias cutâneas pequenas e levemente elevadas. No fim da galeria, com frequência existe uma vesícula contendo a fêmea do ácaro. O prurido intenso normalmente leva à escoriação da pele, secundária à coceira, que por sua vez produz crostas e infecção secundária bacteriana. Os pacientes apresentam seus primeiros sintomas dentro de semanas a meses após a exposição; porém, o período de incubação pode ser tão curto quanto 1 a 4 dias em pessoas sensibilizadas por exposição prévia. A hipersensibilidade do hospedeiro (tardia ou do tipo IV) provavelmente desempenha um importante papel na determinação das várias manifestações clínicas da escabiose.

Alguns indivíduos imunodeficientes podem desenvolver uma variante da escabiose, denominada sarna norueguesa, caracterizada por dermatite generalizada com extensa escamação e crostas e a presença de milhares de ácaros na epiderme. Essa doença é altamente contagiosa e sugere que a imunidade do hospedeiro também desempenha um papel na supressão de *S. scabiei*.

Diagnóstico

O diagnóstico clínico da escabiose baseia-se nas lesões características e sua distribuição. O diagnóstico definitivo da escabiose depende da demonstração do ácaro em raspados de pele. Por serem os ácaros adultos frequentemente encontrados nas porções terminais de uma galeria recente, é melhor que se realizem os raspados dessas áreas. O material dos raspados é colocado em uma lâmina de microscópio limpa, clarificado pela adição de uma a duas gotas de uma solução

de hidróxido de potássio a 20%, recoberto por lamínula e examinado ao microscópio sob uma objetiva de menor aumento. Com experiência, o ácaro e os ovos podem ser reconhecidos. A biópsia da pele também pode revelar os ácaros e ovos em cortes teciduais.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento-padrão e bastante eficaz para escabiose é o hexacloreto de gamabenzeno a 1% (lindano), em loção. Uma ou duas aplicações (cabeça ao pé) em intervalos semanais são eficazes contra a escabiose. O lindano é absorvido pela pele, e aplicações repetidas podem ser tóxicas. Por essa razão, não é recomendável utilizá-lo no tratamento de recém-nascidos, crianças pequenas ou mulheres gestantes e lactentes.

Recentemente, um creme de permetrina a 5% (Elimite®) substituiu as loções de lindano como o tratamento de escolha para escabiose. Os testes clínicos demonstraram que a permetrina foi mais eficaz e menos tóxica que o lindano. Outras preparações utilizadas para tratar a sarna incluem ivermectina por via oral, preparações de crotamiton (6%), benzoato de benzila e monossulfeto de tetraetiltiuram. As duas últimas preparações não estão disponíveis nos Estados Unidos.

A prevenção primária da escabiose é mais bem atingida com bons hábitos de higiene, limpeza pessoal e lavagem rotineira de roupas e roupas de cama. A prevenção secundária inclui a identificação e tratamento de indivíduos infestados e possivelmente seu ambiente doméstico e contatos sexuais. Em uma situação epidêmica, o tratamento simultâneo de todos os indivíduos afetados e seus contatos pode ser necessário. Isso é seguido de uma limpeza completa do ambiente (p.ex., fervura das roupas e roupas de cama) e vigilância constante para prevenir a recorrência.

Ácaros do Folículo Humano

Fisiologia e Estrutura

Os ácaros do folículo humano incluem duas espécies do gênero *Demodex*, *D. folliculorum* e *D. brevis*. Esses ácaros são organismos pequenos (0,1 a 0,4 mm) com um corpo vermiforme, quatro pares de patas curtas e grossas e um abdome anelado. *D. folliculorum* parasita os folículos pilosos da face na maioria dos humanos adultos, enquanto *D. brevis* é encontrado nas glândulas sebáceas da cabeça e tronco.

Epidemiologia

Organismos do gênero *Demodex* são parasitas obrigatórios do tegumento humano e são de distribuição cosmopolita. Infestações são incomuns em crianças pequenas e aumentam no período da puberdade. Estima-se que 50% a 100% dos adultos estejam infestados por esses ácaros.

Síndromes Clínicas

O papel das espécies de *Demodex* na doença humana é incerto. Elas foram associadas a acne, cravos, blefarites, anormalidades do escalpo e exantemas torácicos. Mais recentemente, a foliculite papular extensa, resultante da infestação por *Demodex*, tem sido descrita em pessoas com imunodeficiência adquirida. Fatores como uma higiene pessoal pobre, aumento da produção de sebo, hipersensibilidade ao ácaro e imunossupressão podem aumentar a suscetibilidade do hospedeiro e acentuam a apresentação clínica da infestação pelo *Demodex* (Caso Clínico 78-1). A maioria das pessoas infestadas por esses ácaros permanece assintomática.



Caso Clínico 78-1 Foliculite por Demodex

Antille et al. (*Arch Dermatol* 140:457–460, 2004) relataram o caso de foliculite por *Demodex* em um homem de 49 anos. O paciente tinha rosácea havia 12 anos e, no momento do atendimento médico, apresentava rosácea telangiectásica e papular nas bochechas e testa. Sua condição se deteriorou progressivamente, apesar de tratamentos sistêmicos intermitentes com ciprofloxacino. Seis meses antes, ele havia cessado todos os tratamentos exceto as terapias antihipertensivas e antiuricêmicas. Um tratamento alternado com solução de clindamicina e unguento de tacrolimus a 0,03% uma vez ao dia foi inicialmente eficaz e bem tolerado. No entanto, 3 semanas depois, ele apresentou um rubor agudo com eritema intenso e pustulação ampla. Uma distensão delgada de material pustular revelou abundância de ácaros do gênero *Demodex*, que também foram visualizados em uma amostra de biópsia, a qual confirmou o diagnóstico de rosácea. O tratamento com tacrolimus foi descontinuado, e o rubor se resolveu rapidamente com terapia sistêmica de ciprofloxacino. A terapia com ciprofloxacino foi cessada 1 mês depois, e não houve recaída durante um acompanhamento de 11 meses. Este caso é um exemplo de uma situação em que as propriedades imunossupressoras do tacrolimus facilitaram o supercrescimento dos ácaros foliculares do gênero *Demodex*, resultando em uma dermatite pustular.

Diagnóstico

Os ácaros podem ser vistos microscopicamente em material espremido de um folículo infestado. Eles podem ser visualizados como achados acidentais em cortes histológicos da pele facial.

Tratamento

O tratamento eficaz consiste em uma única aplicação de hexacloreto de gamabenzeno a 1%.

Ácaros Trombiculídeos

Fisiologia e Estrutura

Os trombiculídeos são larvas de ácaros da família *Trombiculidae*. Os ácaros trombiculídeos adultos infestam grama e arbustos, e suas larvas (i.e., larvas vermelhas) atacam humanos e outros vertebrados, produzindo dermatite grave. As larvas possuem três pares de patas e são recobertas por cerdas ramificadas e características.

As larvas aparecem como pontos avermelhados pequenos e muito pouco visíveis, fixados à pele, onde utilizam seu aparato bucal guarnecido de gancho para ingerir fluidos teciduais. Os trombiculídeos tipicamente se fixam às áreas de pele onde as roupas são justas ou restritas (p.ex., pulsos, tornozelos, axilas, virilha, cintura). Após se alimentar, a larva ingurgitada se desprende do hospedeiro e cai ao solo, onde sofre muda e desenvolvimento para ninfas e adultos.

Epidemiologia

Os trombiculídeos que são importantes na América do Norte incluem as larvas de *Eutrombicula alfreddugesi* e *Eutrombicula splendens*. Na Europa, a espécie importante é o ácaro da colheita, *Trombicula autumnalis*. Os trombiculídeos são um problema particular de entusiastas do ar livre, como os que gostam de acampar e realizar piqueniques. Na Europa e nas Américas eles estão associados a lesões intensamente pruriginosas; no entanto, na Ásia, Austrália e na margem ocidental do Pacífico, eles servem como vetores da riquetsiose denominada tifo rural ou febre de *tsutsugamushi* (*Orientia tsutsugamushi*) (Tabela 78-2 e Cap. 34).

Síndromes Clínicas

A saliva injetada na pele no momento da fixação do ácaro produz um prurido intenso e dermatite. As lesões da pele aparecem como marcas eritematosas pequenas, que progridem para pápulas e podem persistir por semanas. As larvas dos ácaros podem ser visíveis no centro da área avermelhada e edematosa. A irritação pode ser tão grave que causa febre e distúrbios do sono. Pode ocorrer infecção bacteriana secundária das lesões escoriadas.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento para a dermatite causada pelos trombiculídeos é amplamente sintomático e consiste em agentes antipruriginosos, anti-histamínicos e esteroides. O uso de repelentes contra insetos, como o *N*,*N*-9-dietil-*m*-toluamida (DEET), pode ser de alguma ajuda na prevenção de pessoas que vão entrar em áreas infestadas por trombiculídeos.

Carrapatos

Fisiologia e Estrutura

Os carrapatos são ectoparasitas hematófagos de uma grande variedade de vertebrados, incluindo os seres humanos. Os carrapatos são oportunistas, em vez de hospedeiro-específicos, e tendem a realizar hematofagia de um grande número de animais grandes e pequenos. Os carrapatos apresentam um ciclo de vida de quatro estágios, que inclui ovo, larva, ninfa e adulto. Embora a larva, ninfa e adultos sejam todos hematófagos, é o carrapato adulto que normalmente pica humanos.

Os carrapatos compreendem duas grandes famílias, a *Ixodidae*, ou dos carrapatos duros, e a *Argasidae*, ou dos carrapatos moles. Os carrapatos moles apresentam um corpo coriáceo, o qual não possui um escudo dorsal rígido, e o aparato bucal se localiza ventralmente, não sendo visualizado dorsalmente (Fig. 78-6). Os carrapatos duros apresentam uma placa dorsal ou escudo rígido, e o aparato bucal está visível de maneira clara dorsalmente (Fig. 78-7). Tanto os carrapatos duros como os moles servem como ectoparasitas para os humanos. Os carrapatos moles diferem dos duros em seu comportamento alimentar. Os carrapatos moles completam o ingurgitamento em uma questão de minutos ou no máximo em algumas horas; os carrapatos duros se alimentam vagarosamente, levando de 7 a 9 dias para se tornarem ingurgitados.

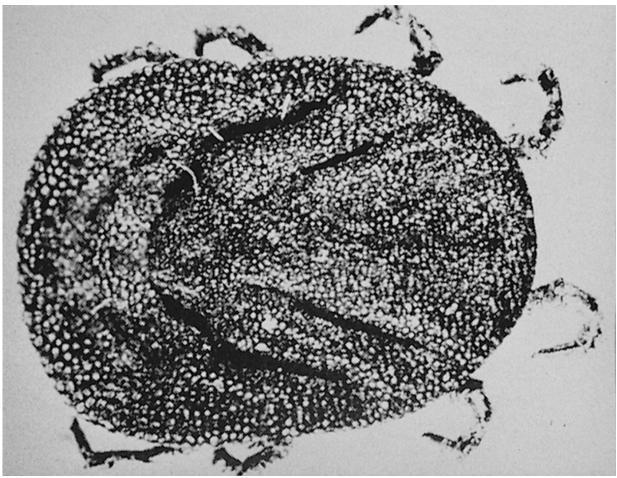


FIGURA 78-6 Carrapato mole (*Ornithodoros* spp.). (De Strickland GT: *Hunter's tropical medicine*, ed 7, Philadelphia, 1991, Saunders.)



FIGURA 78-7 Carrapato duro (Ixodes dammini). (De Peters W: A colour atlas of arthropods in clinical medicine, London, 1992, Wolfe; cortesia do Professor A. Spielman.)

Epidemiologia

Os carrapatos são encontrados, mundialmente, em áreas cobertas de árvores e rurais. Na América do Norte, as espécies de carrapatos duros de importância incluem *Dermacentor variabilis* (o carrapato do cão americano), *D. andersoni* (o carrapato da madeira das Montanhas Rochosas), *Amblyomma americanum* (o carrapato-estrela), *Rhipicephalus sanguineus* (o carrapato-marrom do cão) e *Ixodes dammini* (o carrapato-do-cervo). Esses carrapatos são encontrados de forma variável pelos Estados Unidos e são vetores importantes de diversas doenças infecciosas, incluindo a febre maculosa das Montanhas Rochosas (*Dermacentor* spp.), tularemia (*Dermacentor* spp.), febre Q (*Dermacentor* spp.), doença de Lyme (*Ixodes* spp.), babesiose (*Ixodes* spp.) e erlichiose (*D. variabilis* e *A. americanum*) (Tabela 78-2). Os carrapatos moles do gênero *Ornithodoros* transmitem os espiroquetas causadores da febre recorrente (*Borrelia* spp.) em áreas limitadas do oeste (Tabela 78-2). Em geral, pessoas sob risco de exposição aos carrapatos estão envolvidas em atividades ao ar livre em áreas cobertas de árvores. A exposição ao carrapato também pode ocorrer durante estadas em cabanas rurais habitadas por pequenos roedores, que comumente servem como hospedeiros para carrapatos e outros ectoparasitas.

Síndromes Clínicas

As picadas de carrapato são geralmente de consequência menor e estão limitadas a pequenas pápulas eritematosas. Consequências mais sérias da picada do carrapato incluem o desenvolvimento de um tipo de paralisia, que é resultante de substâncias liberadas pelos carrapatos durante a alimentação; e transmissão de um número de doenças causadas por riquétsias, bactérias, vírus, espiroquetas e protozoários em humanos e outros animais.

Os carrapatos podem se fixar em qualquer ponto do corpo, mas tipicamente preferem o escalpo, linha do cabelo, orelhas, axilas e virilha. A picada inicial é quase sempre indolor, e a presença do carrapato pode não ser detectada por várias horas após o contato. Após o carrapato ter se soltado ou ser removido manualmente, a área pode se tornar avermelhada, dolorida e pruriginosa. A ferida pode tornar-se secundariamente infectada e necrótica, exigindo antibioterapia. Deve-se notar que, após a remoção do carrapato, o seu aparelho bucal permanece, frequentemente, encrustado na pele. A remoção dos

aparelhos bucais não é essencial; eles serão envolvidos como um corpo estranho ou serão eliminados no processo de coceira.

Três espécies de carrapato, *D. andersoni*, *D. variabilis* e *A. americanum*, foram relatadas como causadoras da **paralisia por picada de carrapato**. Esta é caracterizada por paralisia flácida ascendente, febre e intoxicação geral, que podem levar ao comprometimento respiratório e à morte. A paralisia se deve a substâncias tóxicas liberadas na saliva do carrapato e pode ser revertida por meio da remoção do mesmo. A paralisia por picada de carrapato é observada mais comumente em crianças pequenas e quando a fixação do carrapato ocorre em oposição ao sistema nervoso central (p.ex., escalpo, cabeça, pescoço).

Os carrapatos também estão envolvidos na transmissão de infecções como a doença de Lyme, febre maculosa das Montanhas Rochosas, erliquiose, febre do carrapato-do-colorado, febre recorrente, tularemia, febre Q e babesiose (Caso Clínico 78-2; também Tabela 78-2). O leitor deve consultar os capítulos apropriados deste livro para a discussão dos aspectos clínicos e microbiológicos dessas infecções.



Caso Clínico 78-2 Febre por Picada de Carrapato-africano

Owen et al. (*Arch Dermatol* 142:1312-1314, 2006) descrevem uma mulher de meia-idade que retornou de uma viagem missionária no Zimbábue com uma doença semelhante à gripe e uma escara de inoculação; ela também apresentou uma história de viagem a uma fazenda de caça. A biópsia das lesões cutâneas revelou um padrão histopatológico compatível com uma patogênese infecciosa. Colorações imuno-histoquímicas confirmaram a presença de organismos riquetsiais. Sob o aspecto do histórico da paciente e do conjunto de sinais e sintomas clínicos, foi realizado um diagnóstico de febre por picada de carrapato-africano. A paciente foi tratada com doxiciclina e apresentou um curso não complicado.

A febre por picada de carrapato-africano é uma doença causada por *Rickettsia africae*, que emergiu recentemente como uma doença significativa entre os viajantes internacionais. O vetor é o carrapato do gênero *Amblyomma*, que é endêmico na África subsaariana. Este é um exemplo de apenas uma das muitas doenças causadas por riquétsias transmitidas por carrapatos.

Diagnóstico

O diagnóstico das picadas de carrapato e das doenças transmitidas por eles normalmente está no achado de um carrapato ou história de exposição a áreas infestadas por esses insetos. A identificação de um organismo como sendo um carrapato adulto é quase sempre clara e se baseia nas observações de um organismo achatado dorsoventralmente, que possui quatro pares de patas sem segmentação visível (Figs. 78-6 e 78-7). Um entomologista ou parasitologista deve ser consultado se uma identificação mais aprofundada for necessária. O diagnóstico de doenças infecciosas específicas transmitidas por carrapatos é abordado nas respectivas seções deste livro.

Tratamento, Prevenção e Controle

A remoção precoce de carrapatos fixados é de importância primária e pode ser feita por uma tração firme no corpo do inseto, realizada com o uso de fórceps localizado o mais próximo possível da pele. Deve-se ter cuidado para evitar a torção ou esmagamento do carrapato, o que pode deixar o aparato bucal fixado à pele, ou injetar material potencialmente infectante na ferida. A tração firme é superior às técnicas de estímulo nocivo ou oclusivas para a remoção do carrapato. Após a remoção, a ferida deve ser limpa e observada em busca de infecções secundárias. Como os carrapatos podem albergar agentes altamente infecciosos, o médico deve utilizar precauções apropriadas de controle da infecção (p.ex., uso de luvas, lavagem das mãos, descarte apropriado dos carrapatos e material contaminado) durante a remoção do inseto. A remoção do carrapato é imperativa em caso de paralisia do carrapato. A menos que o carrapato seja removido, podem ocorrer quadriplegia e paralisia respiratória; a taxa de mortalidade atinge 10% nas situações em que o carrapato não é removido. Geralmente, observa-se recuperação total no espaço de 48 horas após a sua remoção.

Medidas preventivas utilizadas em áreas infestadas por carrapatos incluem a utilização de roupas protetoras que se ajustam de forma confortável à região dos tornozelos, pulsos, cintura e pescoço, de modo que os carrapatos não consigam ganhar acesso à pele. Repelentes contra insetos, como o DEET, são em geral eficazes. Pessoas e animais devem ser inspecionados em busca de carrapatos após visitas a áreas infestadas por esses insetos.

Hexapoda (Insecta)

Os insetos, ou hexápodes, constituem a maior e mais importante classe de artrópodes, correspondendo a cerca de 70% de todas as espécies conhecidas de animais. Os insetos incluem mosquitos, moscas, pulgas, piolhos, baratas, abelhas, vespas, besouros e traças, para nomearmos apenas alguns. O corpo do inseto é dividido em três partes — cabeça, tórax e abdome — e é equipado com um par de antenas, três pares de apêndices e um ou dois pares de asas ou ausência de asas. A significância médica de qualquer inseto está relacionada com a sua forma de vida, particularmente seu aparato bucal e hábitos alimentares. Os insetos podem servir como vetores para uma variedade de bactérias, vírus, protozoários e metazoários patogênicos. Certos insetos podem servir meramente como vetores mecânicos para a transmissão de patógenos, enquanto em outros insetos os patógenos sofrem multiplicação ou desenvolvimento cíclico no interior do inseto

hospedeiro. Os métodos pelos quais os insetos transmitem patógenos variam e são discutidos aqui. Eles também podem ser patógenos por si sós, causando lesão mecânica por picadas, lesão química por inoculação de toxinas e reações alérgicas a materiais transmitidos por suas picadas ou ferroadas. Existem mais de 30 ordens de insetos, mas apenas aquelas de maior importância médica serão discutidas nesta seção.

Dípteros Hematófagos

A ordem Diptera é a maior dos insetos voadores. Todos os dípteros apresentam um único par de asas membranosas funcionais e diferentes modificações de aparatos bucais, que foram adaptados para perfurar a pele e sugar o sangue ou sucos teciduais. Sua característica mais importante é o seu papel como vetores biológicos ou mecânicos de uma variedade de doenças infecciosas, incluindo leishmaniose, tripanossomíase, malária, filaríase, oncocercíase, tularemia, bartonelose e as encefalites virais (Tabela 78-2). Os insetos hematófagos incluem os mosquitos, flebotomíneos e simulídeos, e todos são capazes de transmitir doenças aos humanos. Outros dípteros, como a mosca-do-equino e mosca-dos-estábulos, são capazes de causar picadas dolorosas, mas não são conhecidos por transmitir patógenos aos humanos. Embora a mosca-doméstica não pique, ela decerto é capaz de transmitir mecanicamente um grande número de infecções por vírus, bactérias e protozoários aos hospedeiros humanos. As doenças infecciosas transmitidas pelos insetos hematófagos são bem abordadas em outros capítulos deste livro. A seguinte seção vai apenas abordar as lesões resultantes da picada desses insetos e os efeitos das substâncias salivares inseridas na pele humana e nos tecidos.

Mosquitos

Fisiologia e Estrutura

Os mosquitos adultos são pequenos e possuem pernas delicadas, um par de asas, antenas longas e um aparato bucal bastante longo, adaptado para penetração e sucção. As duas principais subfamílias de mosquitos (família Culicidae), a Anophelinae e a Culicinae, dividem um grande número de semelhanças em seus ciclos de vida e desenvolvimento. Elas depositam seus ovos na água ou próximo, têm boa capacidade de voo e se alimentam de néctar e açúcares. As fêmeas da maioria das espécies também se alimentam de sangue, que necessitam para cada oviposição de 100 a 200 ovos. Elas podem se alimentar de sangue a cada 2 a 4 dias. No ato de hematofagia, a fêmea do mosquito injeta saliva, que produz dano mecânico ao hospedeiro, mas também pode transmitir doença e produzir reações imunes imediatas e tardias.

Epidemiologia

Na subfamília Anophelinae, o gênero *Anopheles* contém as espécies responsáveis pela transmissão da malária humana. Nos trópicos, esses mosquitos se reproduzem continuamente em relação à precipitação pluviométrica. Essas espécies variam em sua capacidade de transmissão da malária, e em cada área geográfica o número de espécies que servem como vetores da malária é pequeno. *Anopheles gambiae* é um importante vetor da malária na África subsaariana.

Os mosquitos do gênero *Aedes*, o maior da subfamília Culicinae, são encontrados em todos os *habitats*, variando dos trópicos ao Ártico. Tais espécies podem desenvolver populações devastadoras em pântano, tundra, pasto ou águas de enchente, e possuem um impacto importante na vida selvagem, gado e humanos. *Aedes aegypti*, o mosquito da febre amarela, via de regra se reproduz em recipientes feitos pelo homem (vasos de plantas, calhas, latas), sendo o principal vetor da febre amarela e dengue em ambientes urbanos ao redor do mundo.

Síndromes Clínicas

O dano mecânico induzido pela alimentação do mosquito é quase sempre menor, mas pode estar acompanhado de dor e irritação branda. A picada é normalmente seguida em alguns minutos de um pequeno machucado plano, circundado por um rubor vermelho. A reação tardia consiste em prurido, edema e vermelhidão da região da ferida. Infecção secundária pode se seguir como resultado da coceira.

Tratamento, Prevenção e Controle

A atenção médica na maioria das vezes não é procurada para uma picada, a menos que ocorra infecção secundária. Anestésicos ou anti-histamínicos locais podem ser úteis no tratamento de reações às picadas dos mosquitos.

Medidas preventivas em áreas infestadas por mosquitos incluem o uso de telas nas janelas, cortinados e roupas protetoras. Repelentes contra insetos, como o DEET, são geralmente eficazes. Medidas de controle dos mosquitos que envolvam o uso de inseticidas têm sido eficazes em algumas áreas.

Ceratopogonídeos

Fisiologia e Estrutura

Os ceratopogonídeos representam um grupo de pequenos insetos com nomes como **mosquito-palha, maruim e pólvora**. A maioria dos insetos que atacam humanos pertence ao gênero *Culicoides*; são pequenos (0,5 a 4 mm de comprimento) e esguios o suficiente para passarem através da fina malha de uma tela comum de janela. As fêmeas ingerem sangue e tipicamente se alimentam ao anoitecer, quando podem atacar em grandes quantidades.

Epidemiologia

Os mosquitos-palha podem ser importantes pestes em praias e áreas de *resort* próximas a pântanos salgados. Aqueles do gênero *Culicoides* são os principais vetores das filarioses na África e nos trópicos do Novo Mundo.

Síndromes Clínicas

Os aparatos bucais dos ceratopogonídeos são semelhantes à lança e produzem uma picada dolorida. As picadas podem produzir lesões locais que perduram por horas ou dias.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento local é paliativo, com loções, anestésicos e medidas antissépticas. O tratamento dos locais de reprodução com pesticidas e repelentes pode ser útil contra algumas das espécies mais comuns dessas pestes.

Flebotomíneos

Fisiologia e Estrutura

Os flebotomíneos, ou mosquitos-palha, pertencem a uma única subfamília dos Psychodidae, a Phlebotominae. Eles são todos insetos pequenos (1 a 3 mm), delicados, pilosos, com baixa capacidade de voo e se alimentam de sangue de humanos, cães e roedores. Eles transmitem uma grande quantidade de infecções, incluindo leishmaniose (Tabela 78-2). As fêmeas dos flebotomíneos se tornam infectadas quando se alimentam de pessoas infectadas.

Epidemiologia

As larvas dos flebotomíneos se desenvolvem em *habitats* não aquáticos, como solo úmido, paredes de pedra e montes de lixo. Em muitas áreas, os flebotomíneos causam problemas na forma de pestes. Também servem como vetores de doenças infecciosas como a leishmaniose no Mediterrâneo, Oriente Médio, Ásia, Índia e América Latina.

Síndromes Clínicas

A picada pode ser dolorosa e pruriginosa ao redor do local da lesão. Pessoas sensibilizadas podem apresentar reações alérgicas. A febre do mosquito-palha é caracterizada por cefaleia frontal grave, mal-estar, dor retro-orbital, anorexia e náusea.

Tratamento, Prevenção e Controle

Os flebotomíneos são bastante sensíveis aos inseticidas, que devem ser aplicados nos locais de reprodução e nas telas de janelas. Diversos repelentes para insetos também podem ser úteis.

Simulídeos

Fisiologia e Estrutura

Os membros da família Simuliidae são comumente denominados **borrachudos ou piuns**. Possuem de 1 a 5 mm de comprimento, são corcundas e apresentam aparato bucal que consiste em seis "lâminas" que são capazes de rasgar a pele (Fig. 78-8). Os simulídeos são insetos hematófagos e se reproduzem em riachos e rios de água corrente rápida. São de grande importância como vetores da oncocercíase (Tabela 78-2).



FIGURA 78-8 Simulídeo (Simulium spp.), o vetor da oncocercíase. (De Peters W: A colour atlas of arthropods in clinical medicine, London, 1992, Wolfe; cortesia do Dr. S. Meredith.)

Epidemiologia

Os simulídeos são comuns na África e América do Sul, onde servem como vetores da oncocercíase. Na América do Norte, eles são comuns ao redor das regiões de lagos do Canadá e norte dos Estados Unidos. São pestes para caçadores e pescadores nessas áreas. Em grandes números, podem causar perda de sangue significativa e são de grande ameaça para os animais domésticos e selvagens.

Síndromes Clínicas

Uma variedade de respostas já foi observada em humanos após a picada de flebotomíneos. A picada da fêmea pode rasgar a superfície da pele e induzir o sangramento, que continua por algum tempo após a saída do inseto. Normalmente, há um ponto hemorrágico distinto no local da picada. Múltiplas picadas podem resultar em considerável perda de sangue. A picada é dolorosa e acompanhada de inflamação local, prurido e edema.

A reação local também pode ser acompanhada por uma resposta sistêmica, que varia de acordo com o número de picadas e a sensibilidade da pessoa. Essa síndrome é conhecida como **febre do borrachudo** e é marcada por cefaleia, febre e adenite. Em geral, ela decresce dentro de 48 horas e é considerada uma reação de hipersensibilidade às secreções salivares do inseto.

Além das respostas locais e sistêmicas à picada do simulídeo, uma **síndrome hemorrágica** já foi descrita após picadas de simulídeos em certas áreas do Brasil. Essa síndrome se assemelha à púrpura trombocitopênica e é caracterizada por hemorragias cutâneas locais e disseminadas, associadas ao sangramento de mucosa. Acredita-se que tal síndrome hemorrágica possa ser produzida por um fenômeno de hipersensibilidade ou de resposta a uma toxina, causada por múltiplas picadas de simulídeos.

Diagnóstico

A picada do simulídeo é marcada caracteristicamente por um ponto de sangue seco e hemorragia subcutânea no local da ferida. Em pessoas com síndromes hemorrágicas, as contagens de plaquetas estão reduzidas; em cerca de metade dos pacientes, há um tempo prolongado de sangramento e pobre retração do coágulo.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento inclui as medidas paliativas usuais (p.ex., anestésicos, anti-histamínicos, loções) para aliviar o prurido local e o edema. Pacientes com a síndrome hemorrágica demonstraram notável melhora com terapia por corticosteroides.

Medidas preventivas incluem roupas protetoras. Em geral, repelentes para insetos são ineficazes contra simulídeos. Algum controle é possível com o uso de inseticidas em rios e riachos.

Mosca-do-Cavalo e Moscas-do-Cervo

A família Tabanidae consiste em espécies incluindo a mosca-dos--equinos, mosca-dos-cervos, mosca-do-gado e mosca-damanga, que atacam principalmente animais. Elas são grandes, variando em comprimento de 7 a 30 mm. Os machos se alimentam de seiva vegetal, e as fêmeas, de sangue. No ato de picar, a fêmea deixa uma ferida profunda, fazendo com que o sangue jorre, sendo consumido pelo inseto. O inseto pode servir como um vetor mecânico de doenças infecciosas, quando os aparatos bucais se tornam contaminados em um hospedeiro e transferem organismos para o próximo. Esses insetos não são considerados vetores importantes de doenças infecciosas humanas.

Insetos Muscoides

Fisiologia e Estrutura

Os insetos muscoides incluem três insetos de importância médica: a mosca-doméstica, *Musca domestica*; a mosca-dos-estábulos, *Stomoxys calcitrans*; e as moscas tsé-tsé do gênero *Glossina*. A mosca-dos-estábulos, frequentemente confundida com a mosca-doméstica, é uma real hematófaga capaz de servir como um vetor mecânico, de período curto, de um grande número de infecções por bactérias, vírus e protozoários. A mosca tsé-tsé (Fig. 78-9) também é uma mosca hematófaga e serve como vetor biológico e hospedeiro intermediário para os agentes da tripanossomíase africana, *Trypanosoma brucei rhodesiense* e *T. b. gambiense*. A mosca-doméstica comum representa um grupo de gêneros que não são hematófagos ou contaminantes. Devido aos seus hábitos de alimentação e de vida, são transmissoras mecânicas de diversos agentes para humanos.



FIGURA 78-9 Mosca tsé-tsé, o vetor da tripanossomíase africana. (De Peters W: A colour atlas of arthropods in clinical medicine, London, 1992, Wolfe; cortesia de Wellcome Foundation, Berkhamsted, England.)

A mosca tsé-tsé é encontrada nas regiões do leste e central da África, onde é de grande importância médica e veterinária como hospedeiro intermediário e vetor biológico de um grande número de tripanossomos que infectam humanos e animais. As moscas-domésticas e dos estábulos são cosmopolitas em distribuição e servem como indicadores de saneamento pobre. A mosca-doméstica, *M. domestica*, deposita ovos em qualquer matéria orgânica (fezes, lixo, matéria vegetal em decomposição), que servirá como alimento para as larvas em desenvolvimento. As moscas-dos-estábulos comumente depositam ovos em matéria vegetal úmida e em decomposição, como restos de grama cortada ou pilhas de adubo encontradas em comunidades suburbanas.

Prevenção e Controle

O controle das populações de moscas tsé-tsé tem sido problemático devido à sua distribuição dispersa em áreas sobretudo rurais e subdesenvolvidas. Repelentes contra insetos e inseticidas podem ser eficazes contra as moscas adultas. A melhora das condições sanitárias é importante no controle das moscas-domésticas. Restos de plantas devem ser protegidos de chuva ou destruídos.

Moscas Causadoras de Miíases

Miíase é o termo aplicado à doença produzida por larvas que vivem de forma parasitária em tecidos humanos. Clinicamente, as miíases podem ser classificadas de acordo com a parte do corpo envolvida (p.ex., miíase nasal, intestinal ou urinária). O número de moscas causadoras de miíases e a diversidade de necessidades no estilo de vida são enormes. Apenas as relações com hospedeiro e locais de predileção de algumas das espécies mais importantes serão abordadas nesta seção.

A miíase obrigatória se refere à miíase causada por moscas que necessitam de um hospedeiro para o desenvolvimento larvar. Um exemplo importante é a mosca-berneira humana, *Dermatobia hominis*, que é encontrada em regiões úmidas do México e Américas Central e do Sul. A mosca-berneira adulta fixa seus ovos ao abdome de moscas ou mosquitos hematófagos, que por sua vez distribuem seus ovos enquanto obtêm uma alimentação de sangue de um animal ou homem. A larva penetra na pele através da ferida criada pela picada do inseto. As larvas se desenvolvem ao longo de 40 a 50 dias, durante os quais aparece uma lesão dolorosa conhecida como **berne** (Caso Clínico 78-3). Quando a larva atinge a maturidade, ela abandona o hospedeiro para se transformar em pupa. A lesão resultante pode levar semanas a meses para cicatrizar e pode se tornar secundariamente infectada. Se a larva morrer antes de deixar a pele, forma-se um abscesso.



Caso Clínico 78-3 Miíase Furuncular

Bakos et al. (*Arch Dermatol* 143:123–124, 2007) descrevem o caso de uma mulher caucasiana de 54 anos que foi examinada com um histórico de nódulo inflamatório doloroso, de 2 semanas, na porção superior de sua perna direita. Ela se lembrava vagamente de ter sido picada naquela área por um "inseto". Após 1 semana de tratamento com antibiótico oral, prescrito para aliviar a reação inflamatória ao redor, um nódulo mal delimitado foi observado, com um pequeno poro no topo, pelo qual exsudava um fluido serossanguinolento. A dermoscopia revelou uma abertura central, circundada por vasos sanguíneos dilatados, da qual uma estrutura amarelada com espinhos, semelhantes a farpas pretas, localizados na extremidade, extrusava intermitentemente. Isso correspondia à extremidade posterior da larva de *Dermatobia hominis* (mosca-berneira humana). A lesão foi obstruída com uma dupla camada de emplastro por 24 horas, e a larva imóvel e morta foi removida com o auxílio de fórceps e espremedura delicada. A miíase furuncular devido à *D. hominis* é uma doença comum em países tropicais americanos. O diagnóstico da miíase furuncular deve sempre ser considerado em cada lesão furunculoide não responsiva ao tratamento normal, especialmente em viajantes retornando de países tropicais.

A miíase facultativa é causada por moscas que na maioria das vezes depositam seus ovos em matéria orgânica animal ou vegetal em decomposição; ela se desenvolve em um hospedeiro se a entrada for facilitada pela presença de feridas ou machucados. Representantes deste grupo incluem a mosca-varejeira verde, *Phaenicia*; a mosca-varejeira azul, *Cochliomyia*, e a mosca-varejeira preta, *Phormia*. Estas têm distribuição cosmopolita e sua presença é encorajada pelo saneamento pobre. Ocasionalmente, depositam ovos em feridas ou machucados abertos em animais e humanos. Um outro grupo que causa miíases em humanos é o das moscas-da-carne, ou sarcofagídeos. Elas têm em distribuição cosmopolita e normalmente se reproduzem em matéria em decomposição. Podem depositar suas larvas em alimentos, que, se ingeridos, servirão como fonte de infecção.

Moscas que produzem **miíases acidentais** não têm nenhuma necessidade de se desenvolver em um hospedeiro. A infecção acidental pode ocorrer quando os ovos são depositados em aberturas orais ou genitourinárias, e as larvas resultantes ganham entrada no trato intestinal ou genitourinário. Moscas que podem produzir miíases acidentais incluem a *M. domestica*, a mosca-doméstica comum.

Piolhos Hematófagos

Apesar de diversas espécies de piolhos (*Anoplura*) infestarem humanos na forma de parasitas hematófagos, apenas o piolhodo-corpo é de importância médica como vetor da riquétsia causadora do tifo e febre das trincheiras e dos espiroquetas da febre recorrente (Tabela 78-2). O piolho-do-corpo, *Pediculus humanus*, e o piolho-da-cabeça, *P. humanus capitis*, são insetos alongados, ápteros e achatados, com três pares de patas e aparatos bucais adaptados para perfuração da pele e sucção de sangue (Fig. 78-10). O piolho-do-púbis ou chato, *Phthirus pubis*, possui um abdome curto semelhante ao de um caranguejo, com garras nos segundos e terceiros pares de patas (Fig. 78-11).



FIGURA 78-10 Piolho-do-corpo (*Pediculus humanus*). (De Peters W: A colour atlas of arthropods in clinical medicine, London, 1992, Wolfe; cortesia de Oxford Scientific Films [Dr. R.J. Warren].)



FIGURA 78-11 Chato (*Phthirus pubis*). (De Peters W: A colour atlas of arthropods in clinical medicine, London, 1992, Wolfe; cortesia do Dr. R.V. Southcott.)

Epidemiologia

Epidemias de piolho-da-cabeça são relatadas com frequência nos Estados Unidos, particularmente entre escolares. O piolho-da-cabeça habita os cabelos da cabeça e são transmitidos pelo contato físico ou compartilhamento de escovas de cabelo ou chapéus. Os piolhos-do-púbis sobrevivem de hematofagias ao redor dos pelos das regiões púbicas e perianais do corpo. São transmitidos frequentemente de uma pessoa para outra pelo contato sexual e assentos de banheiros contaminados ou roupas. Os piolhos-do-corpo são com frequência encontrados nas roupas. Diferentemente dos piolhos-da-cabeça ou dos chatos, eles se movem para o corpo para se alimentarem, e retornam para as roupas após obterem sua alimentação de sangue. Todos os piolhos injetam fluidos salivares no corpo durante a ingestão de sangue, causando graus variáveis de sensibilização no hospedeiro humano.

Síndromes Clínicas

O prurido intenso é a característica usual da infestação por piolhos (pediculose). O paciente pode apresentar pápulas avermelhadas e pruriginosas ao redor das orelhas, face, pescoço ou ombros. Infecção secundária e adenopatia regional podem estar presentes.

Diagnóstico

O diagnóstico é feito por meio da demonstração do piolho ou de seus ovos em um paciente com queixa de prurido. Com frequência, o paciente já notou os insetos e o diagnóstico pode ser feito por telefone. Os ovos, ou **lêndeas**, são objetos brancos e arredondados, que podem ser encontrados fixados à raiz do cabelo (piolho-da-cabeça e chato) ou nas roupas (piolho-do-corpo).

Tratamento, Prevenção e Controle

Loção de hexacloreto de gamabenzeno (lindano), aplicada por todo o corpo e deixada por 24 horas, é o tratamento eficaz para piolho. A raspagem do cabelo das áreas afetadas é um auxiliar desejável. O piolho adulto nas roupas deve ser destruído pela aplicação de lindano ou diclorodifeniltricloroetano (DDT) em pó ou pela fervura. O piolho pode sobreviver no ambiente por até 2 semanas; portanto, itens como escovas de cabelo, pentes e roupas de cama devem ser tratados com um pediculicida ou fervura.

A melhor estratégia para prevenção primária é a educação e prática de bons hábitos de higiene. Prevenção secundária deve ser praticada por meio de uma política de vigilância rotineira (p.ex., inspeções de couros cabeludos) em escolas, creches, campos militares e outras instituições. Repelentes podem ser necessários para pessoas que estão sob alto risco de exposição em ambientes com aglomerações.

Pulgas

Fisiologia e Estrutura

As pulgas (*Siphonaptera*) são insetos pequenos, ápteros, com corpos achatados lateralmente e pernas longas adaptadas para o salto (Fig. 78-12). Seus aparatos bucais são adaptados para a sucção ou "sifonamento" do sangue do hospedeiro.



FIGURA 78-12 Pulga. (De Peters W, Pasvol G: Color atlas of tropical medicine and parasitology, ed 6, London, 2007, Mosby.)

Epidemiologia

As pulgas apresentam distribuição cosmopolita. A maioria das espécies é adaptada a um hospedeiro em particular; todavia, elas podem prontamente se alimentar de humanos, em particular quando privadas de seu hospedeiro preferencial. As pulgas são importantes vetores da peste e do tifo murino e são hospedeiros intermediários de cestoides do cão (*Dipylidium caninum*) e de roedores (*Hymenolepis* spp.) que ocasionalmente infectam humanos.

Em contraste com a maioria das pulgas que não invadem o tegumento do hospedeiro, o **bicho-de-pé**, *Tunga penetrans*, pode causar dano considerável através de invasão ativa da pele. A fêmea penetra na pele, frequentemente sob as unhas dos pés ou entre os dedos, onde ingere sangue e deposita seus ovos. O bicho-de-pé é encontrado em regiões tropicais e subtropicais da América, bem como na África e no Oriente. Não é conhecida a transmissão de nenhum patógeno humano.

Síndromes Clínicas

Assim como a picada de outros artrópodes hematófagos, as picadas de pulgas resultam em lesões pruriginosas, eritematosas, de gravidade variável, que dependem da intensidade da infestação e da sensibilidade da pessoa picada. A irritação causada pela saliva da pulga pode produzir achados físicos que variam de feridas pequenas e vermelhas a exantemas difusos e vermelhos. Na infecção secundária pode haver complicação.

A invasão cutânea pelo bicho-de-pé produz uma pápula eritematosa que é dolorosa e pruriginosa. O tecido infestado pode se tornar gravemente inflamado e ulcerado. A infecção secundária é comum. Em casos graves, a infestação pode ser complicada por tétano ou gangrena gasosa, resultando em amputação.

Diagnóstico

O diagnóstico da infestação por pulga é inferido em um paciente com picadas irritantes e que também é dono de animal doméstico (cão ou gato). O exame do paciente e do animal quase sempre revela o inseto característico. O diagnóstico da tungíase é realizado pela detecção da porção escura do abdome do bicho-de-pé, à medida que se projeta da superfície da pele no centro de uma lesão inflamada.

Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento paliativo com antipruriginosos e anti-histamínicos é indicado para a maioria das picadas de pulga. A remoção cirúrgica dos bichos-de-pé é indicada.

Inseticidas comercialmente disponíveis podem controlar as pulgas na sua origem. Repelentes aplicados topicamente podem proteger as pessoas contra picadas de pulga. Os colares e os pós contra pulga para cães são também medidas preventivas eficazes.

Hemípteros

Fisiologia e Estrutura

Os hemípteros se referem especificamente a dois insetos hematófagos, os percevejos-de-cama e os triatomíneos (Figs. 78-13 e 78-14). Ambos os hemípteros são caracterizados por uma probóscide longa, que é dobrada ventralmente para baixo do corpo quando não está em uso. O percevejo-de-cama (*Cimex lectularius*) é um inseto marrom-avermelhado de aproximadamente 4 a 5 mm de comprimento. Possui asas vestigiais, mas não são capazes de voar. Os triatomíneos, ou "barbeiros" apresentam marcas amarelas ou laranja no corpo e uma cabeça alongada. Os triatomíneos possuem asas e são aéreos.

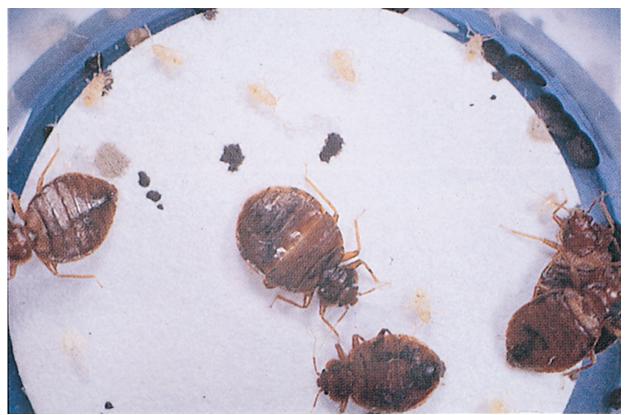


FIGURA 78-13 Percevejo-de-cama (Cimex lectularius). (De Peters W, Pasvol G: Color atlas of tropical medicine and parasitology, ed 6, London, 2007, Mosby.)

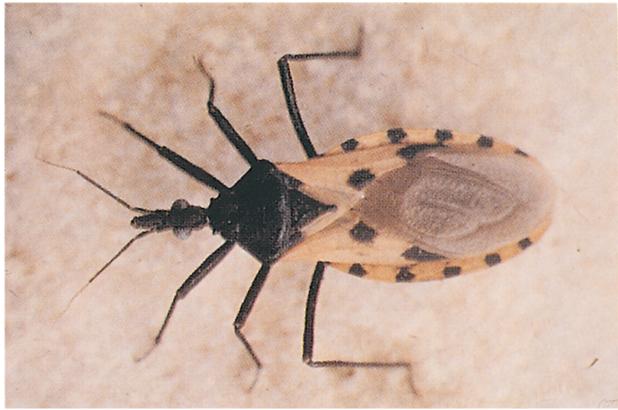


FIGURA 78-14 Triatomíneo. (De Peters W: A colour atlas of arthropods in clinical medicine, London, 1992, Wolfe; cortesia do Dr. D. Minter.)

Epidemiologia

Tanto os percevejos-de-cama quanto triatomíneos são noturnos e se alimentam indiscriminadamente na maioria dos mamíferos. São cosmopolitas em distribuição, enquanto os triatomíneos são limitados às Américas. Os percevejos-de-cama se escondem durante o dia em rachaduras e fendas de mobílias de madeira, sob papéis de parede soltos, nos colchões de espuma e em colchões de mola. Os triatomíneos vivem em rachaduras e fendas de paredes, e em telhados feitos de palha.

Os percevejos-de-cama não desempenham um papel na transmissão de doença humana; contudo, os triatomíneos são importantes vetores da doença de Chagas (Tabela 78-2 e Cap. 74).

Síndromes Clínicas

As picadas de percevejos-de-cama e triatomíneos produzem lesões que variam de pequenas marcas vermelhas a bolhas hemorrágicas. Os percevejos-de-cama tendem a picar em forma linear no tronco e braços, enquanto os triatomíneos picam com alta frequência na face. O edema periorbital clássico secundário à picada pelo triatomíneo é conhecido como sinal de Romaña. A intensidade da reação a uma picada depende do grau de sensibilização do paciente. Além de causar lesões locais, a exposição repetida a picadas de percevejos pode levar (raras vezes) a reações anafiláticas, ou, mais frequentemente, estar associada a distúrbios do sistema nervoso e insônia em crianças e adultos.

Diagnóstico

O padrão e localização das picadas sugerem se são percevejos-de--cama ou triatomíneos. A detecção de pequenos pontos de sangue no lençol, ou dos próprios insetos mortos, é com frequência o primeiro sinal de infestação por percevejo-de-cama.

Tratamento, Prevenção e Controle

Paliativos tópicos são apropriados para o alívio do prurido. Os anti-histamínicos podem ser indicados se a dermatite for intensa. O controle consiste em higiene adequada e aplicações ambientais de inseticidas. O controle das infestações de percevejo tornou-se mais difícil devido ao desenvolvimento de resistência aos inseticidas mais frequentemente utilizados.

Insetos Vesicantes

Fisiologia e Estrutura

A ordem *Hymenoptera* compreende as abelhas, vespas, marimbondos e formigas. O ovipositor modificado das fêmeas, o aparato para deposição de ovos, serve como um órgão vesicante e é utilizado para defesa ou captura da presa para alimentação. Os membros da ordem Hymenoptera são conhecidos por seus sistemas sociais complexos, castas e colmeias ou estruturas de ninhos elaboradas.

Epidemiologia

Entre os himenópteros, as abelhas (Apidae) vivem em organizações sociais complexas, como as colmeias ou em ninhos subterrâneos menos estruturados. Apenas as abelhas melíferas e as africanas são preocupantes para humanos, devido à sua habilidade de ferroar. As Vespidae incluem vespas, marimbondos e caçunungas; todos são insetos agressivos e a principal causa de picadas em humanos. No ato de picar, o inseto estimulado insere a bainha para abrir a ferida. Imediatamente, seguem-se a propulsão dos estiletes e a injeção de veneno.

Nos Estados Unidos, um grupo de formigas que preocupa é o das formigas-de-fogo, *Solenopsis invicta*. São particularmente comuns nos estados do sudoeste. São bem camufladas em montes grandes e com uma crosta rígida, e atacam quando perturbadas. Picam sua vítima com mandíbulas fortes e então ferroam repetidamente.

Síndromes Clínicas

Estima-se que 50 a 100 pessoas morrem por ano nos Estados Unidos devido a reações das ferroadas de himenópteros. Reações tóxicas intensas como febre e câimbras musculares podem ser causadas por pouco menos de 10 ferroadas. Reações alérgicas são consequências mais sérias, mas outras incluem dor, edema, prurido e uma sensação de calor no local da ferroada. O choque anafilático devido às ferroadas de abelha tem resultado em morte em algumas instâncias.

Tratamento, Prevenção e Controle

Nenhum tratamento satisfatório foi descoberto para ferroadas. Se deixado na ferida, o aparato do ferrão deve ser removido de imediato. A injeção de epinefrina é algumas vezes necessária para neutralizar anafilaxia. (*Kits* de emergência estão disponíveis mediante prescrição a pessoas sensíveis.) Para o alívio do desconforto local, é útil o uso de uma loção de calamina ou de um creme contendo corticosteroide tópico em lesões locais mais graves.

Apesar de não haver repelentes eficazes contra esses insetos, seus ninhos podem ser destruídos com qualquer dos vários componentes inseticidas comercialmente disponíveis. Recomenda-se que pessoas sensíveis evitem áreas habitadas por himenópteros.

Referências Bibliográficas

Binford CH, Connor DH. Pathology of tropical and extraordinary diseases. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1976.

Hwang SW, Svoboda TJ, De Jong IJ, et al. Bed bug infestations in an urban environment. Emerg Infect Dis. 2005;11:533–537.

John DT, Petri Jr WA. Markell and Voge's medical parasitology. ed 9 St Louis: Saunders; 2006.

Najarian HH. Textbook of medical parasitology. Baltimore: Williams & Wilkins; 1967.

Peters W. A colour atlas of arthropods in clinical medicine. London: Wolfe; 1992.

Strickland GT. Hunter's tropical medicine and emerging infectious diseases. ed 8 Philadelphia: Saunders; 2000.

 $Swanson\ DL,\ Vetter\ RS.\ Bites\ of\ brown\ recluse\ spiders\ and\ suspected\ necrotic\ arachnidism.\ N\ Engl\ J\ Med.\ 2005;352:700-707.$

Telford SR. Arthropods of medical importance. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. ed 10 Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2011.

Van Horn KG, Tatz JS, Li KI, et al. Copepods associated with a perirectal abscess and copepod pseudo-outbreaks in stools for ova and parasite examinations. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1992;15:561–565.

Índice

Nota: Números de páginas seguidos de f indicam figuras; q, quadros; t, tabelas.

```
A
Abcessos viscerais, fúngicos, 582t-584t
Abertura numérica, do microscópio, 16
Abiotrophia, 186t
Abscesso, 696t-697t
  cerebral
    anaeróbios Gram-negativos, 319
    bacteriano, 149t-151t
    fúngico, 582t-584t
    parasitário, 696t-697t
  coleta de amostras de, 154t-155t, 156-157
  de Brodie, 179-180
  dos tecidos profundos, estreptocócico, 187q
  hepático
    amebiano, 718, 718q
    bacteriano, 149t-151t
    Bacteroides fragilis e, 319f
    coleta e análise de amostras de, 703
  Nocardia, 231
  renal, 149t-151t
  visceral, fúngico, 582t-584t
Abscesso de Brodie, 179-180
Abscesso renal, 149t-151t
Acanthamoeba, 690t-691t, 740
  diagnóstico laboratorial de, 700t-701t
Ácaro da sarna, 796-797, 796f
Ácaro do folículo humano, 797
Ácaros, 152t, 796-798, 797q
  ácaro vermelho, 797-798
  coceira, 796-797, 796f
  folículo humano, 797
  no tifo rural, 342
  riquetsiose transmitida por, 341-342
Ácaros de bicho-de-pé, 797-798
Acetanilida, 709t-710t
```

Acicloguanosina, 403-404, 404f

```
Aciclovir, 401, 403-404, 404f
  para vírus Herpes simplex, 433
  para vírus varicela-zóster, 436
  resistência ao, 403-404
Ácido ciclopiazônico, 683
Ácido desoxirribonucleico, Ver DNA
Ácido dipicolínico, em esporos, 117, 118f
Ácido fosfonoacético, 402
Ácido fosfonofórmico, 402
Ácido N-acetilmurâmico, 113
Ácido p-aminossalicílico, 169
Ácido lipoteicoico, 109, 110t, 137
  de Streptococcus pyogenes, 188
  em estafilococos, 172
Ácido nalidíxico, 168-169, 168t
Ácido paracético, para esterilização, 11, 12t
Ácido pirúvico, 119
Ácidos micólicos, de micobactérias, 220-221
Ácidos nucleicos, antibacterianos para inibição de síntese de, 163t, 168-169, 168t
Ácido teicoico, 109, 110t, 115, 115f
  de Streptococcus pneumoniae, 196-197
  em estafilococos, 172, 173t
Ácido tuberculosteárico, 229
Acinetobacter baumannii, 274t, 278f
Acinetobacter, 143t-148t, 275q, 278-279
  identificação preliminar de, 160t
  métodos de detecção para, 158t-159t
Acinetobacter lowffii, 274t
Acne vulgar, 317
Acremonium, 611t, 664
Acrodermatite crônica atrofiante, 329, 330f
Actina, montagem de, Listeria monocytogenes, 210-211
Actinobacillus, 244, 244t, 248, 249t
Actinomicetos, doenças de seleção de, 230t
Actinomicose, 314, 315f
Actinomicose cervicofacial, 314-315, 315f
Actinomicose pélvica, 314-315, 315q, 315f
Actinomicose torácica, 314-315
Actinomyces, 143t-148t, 313t-314t, 314-316, 314f-316f
Actinomyces israelii, 316f
Adefovir, 404-405, 433, 556
Adenina arabinosídeo, 405
Adenocarcinoma gástrico, associado a Helicobacter, 284, 284t
Adenocarcinoma, gástrico, associado ao Helicobacter, 284, 284t
Adenovírus, 358, 418-424, 418t
```

```
capsídeo de, 363
  características únicas de, 420q
  caso clínico, 423q
  diagnóstico laboratorial de, 423
  doenças associadas a, 419t
  epidemiologia de, 422, 422q
  estrutura e replicação de, 418-421, 419f, 420t
  estudo de caso, 424.e1
  mecanismos da doença de, 421q
  patogênese e imunidade, 421-422, 421f
  proteína de ligação viral de, 365t
  síndromes clínicas, 422-423, 422q, 422f
  utilizações terapêuticas de, 424
  vacinas para, 101t
  vírions de, 360t
Aderência
  bacteriana, 111-112
  parasitária, 692-693, 693t
Adesão, das bactérias, 136-137, 136t
Adesina P1, de Mycoplasma pneumoniae, 335
Adesinas, 113, 136, 136t
  de Bordetella pertussis, 291-292
  de Pseudomonas aeruginosa, 273
  de Streptococcus pneumoniae, 196
  parasitárias, 692-693
    virulência e, 693
Adiaconidia, 670
Adiaspiromicose, 636, 669, 670f
Adjuvante, para vacinas, 60, 98
  direções futuras para, 102
Adressinas, 35
Aedes aegypti, 517
Aeróbios obrigatórios, 119
Aerococcus, 186t
Aeromonas, 143t-148t, 266, 270-271
  em doenças transmitidas pela água, 151t
  em doenças transmitidas por alimentos, 151t
  espécies importantes de, 267t
  métodos de detecção para, 158t-159t
Aerossóis, transmissão de coronavírus através de, 471
Afinidade, de anticorpos, 75-76
Aflatoxinas, 680-681, 680t, 681q
Ágar carvão extrato de levedura tamponado (BCYE), 20t
  Francisella tularensis, 296-297
  Legionella pneumophila, 297f, 299
```

```
Nocardia, 231
Ágar-chocolate, 20, 20t
  no diagnóstico de Francisella tularensis, 296-297
  no diagnóstico de Neisseria gonorrhoeae, 235
Ágar cistina-telurito, 20t
Ágar cromogênico, para estafilococos, 181
Ágar inibidor de fungos filamentosos, 20t, 21
Ágar MacConkey, 20, 20t, 263
Ágar MacConkey contendo sorbitol, 20t
Ágar MacConkey contendo sorbitol (S-MAC), 263
Ágar manitol-sal, 20, 20t
Ágar Middlebrook, 21, 20t, 221f, 232f
Ágar Mueller-Hinton, 20, 20t
Agarrão do diabo, 464-465
Ágar Regan-Lowe, 20t
Ágar Sabouraud dextrose, 20, 20t
Ágar-sangue, 19, 20t
  em Corynebacterium diphtheriae, 209t-210t
Ágar-sangue cistina-telurito (CTBA), 217
Ágar-tiossulfato-citrato-sais biliares-sacarose (TCBS), 20t, 270
Ágar xilose-lisina desoxicolato (XLD), 20, 20t
Agente de Eaton, 334t
Agente delta, 547, 547t, 559
Agentes antibacterianos, 162-169
  amplo espectro, 165, 165t
  curto espectro, 165, 165t
  desenvolvimento de, 162
  espectro estendido, 165, 165t
  locais de atividade de, 163f
  mecanismo de ação de, 163t
    na inibição da síntese da parede celular, 162-166
    na inibição da síntese de ácidos nucleicos, 168-169, 168t
    na inibição da síntese de proteínas, 166-168, 167t
  terminologia de, 163q
Agentes antifúngicos, 595-605
  combinações de, 602-603, 603t
  investigacionais, 602
  local de ação de, 598f
  mecanismos de resistência ao, 603-605, 604t
    fatores clínicos contribuindo para, 605
  sistemicamente ativos, 595-602, 596t-597t
    alilaminas, 601-602
    anfotericina B, 595, 599f
    antimetabólitos, 601
    azóis, 597-600
```

```
equinocandinas, 600-601, 601f
    espectro e atividade relativa de, 600t
    estrutura química de, 599f
    griseofulvina, 601-602
  terminologia associada a, 597q
  testes de susceptibilidade e, 605
  tópicos, 596t-597t, 602
Agentes antifúngicos investigacionais, 602
Agentes antifúngicos tópicos, 596t-597t, 602
Agentes anti-helmínticos, 709t-710t, 712-713
Agentes antiparasitários, 707-714
  alvos para, 707, 708t
  anti-helmínticos, 712-713
  antiprotozoários, 708-712
  benzimidazóis como, 712
  mecanismos de ação e indicações clínicas para, 709t-710t
  piperazinas como, 712-713
  resistência aos, 707-708
  tetra-hidropirimidinas como, 712
Agentes antiprotozoários, 708-712, 709t-710t
Agentes antissépticos, 12, 12t
Agentes antivirais, 400-407, 401q. Ver também agentes específicos
  alvos para, 400-403, 401t
    agrupamento e liberação do vírion como, 403
    fixação como, 400
    penetração e desnudamento como, 400
    replicação do genoma como, 401-402
    resposta imune inata do hospedeiro como, 403
    rompimento do vírion como, 400
    síntese de proteínas como, 402-403
    síntese de RNA como, 400-401
  análogos de nucleosídeos como, 401-405, 402f, 403t
  controle de infecção e, 406-407
  estruturas de, 405f
  fármacos anti-influenza como, 406
  imunomoduladores como, 406
  inibidores da polimerase não nucleosídeos e, 405
  inibidores de protease como, 406
  para vírus da imunodeficiência humana, 542q
Agentes infecciosos, defesas antimicrobianas para, 78t
Agentes oxidantes, para desinfecção, 14
Aggregatibacter actinomycetemcomitans, 244t, 249t
Aggregatibacter aphrophilus, 244t, 249t
Aggregatibacter, 244, 244t, 249, 249t
Aglutinação em látex (LA), 27t, 30
```

```
na detecção viral, 396
Aglutininas, 333
Agrupamento de Lancefield, de estreptococos, 185
Akakabi-byo, 680t, 682
Alarmonas, 125
Albaconazol, 596t-597t, 602
Albendazol, 712, 752
Alcaloides do ergot, 680t, 681
Álcoois
  para antissepsia, 12, 13t, 14
  para desinfecção, 12t-13t
Aldeídos, para esterilização, 13
Alérgenos, na resposta de hipersensibilidade, 91-92
Aleucia, tóxica alimentar, 680t, 683
Aleucia tóxica alimentar (ATA), 680t, 683
Alfa-herpes-vírus, 426t
Alfavírus, 512-519, 512t
  diagnóstico laboratorial de, 518
  epidemiologia de, 516-517, 516q
  estrutura e replicação de, 512-514, 513f-514f
  patogênese e imunidade, 515, 515q, 516f
  resposta imune a, 515-516
  síndromes clínicas com, 517-518
  tratamento, prevenção, controle de, 518-519
Alilaminas, 596t-597t, 601-602
  resistência a, 605
Aloenxertos, rejeição de células T de, 91
Alotipos, de imunoglobulinas, 71
Alternaria, 619t, 625, 664-665, 665f
Alvo antigênico precocemente secretado-6 (ESAT-6), 223-224
Amantadina, 400, 406
  para vírus influenza, 489, 494-495
Amastigota
  de Leishmania, 741-742, 742f
  de Trypanosoma cruzi, 746f
Ambiente ácido, como barreira à infecção, 45
Amebas, 686-687, 688t, 715t-716t, 717-719, 717f, 718q
  de vida livre, 739-741
  diagnóstico laboratorial de, 700t-701t
Amebas de vida livre, 739-741
Amebíase intestinal, 718, 718q
Amicacina, 166, 167t
Amidase, no Streptococcus pneumoniae, 196
Aminoácidos desaminados, 121
Aminoácidos desaminados, 121
```

```
Aminoácidos diamino, 113
Aminocandina, 596t-597t, 602
Aminociclitol, 167t
Aminoglicosídeos, 163t, 166-167, 167t, 200
Aminoquinolina, análogos da, 709t-710t
Amorolfina, 596t-597t
Amostras perianais, coleta e análise de, 702-703
Amostra urinária, coleta e análise de, 154t-155t, 157, 703
Amoxicilina
  para doença de Lyme, 331
  para Bacillus anthracis, 206
Ampicilina, 213, 295
Amplificação baseada em transcrição, para detecção de vírus, 397
Amplificação de DNA, 22-25
Anabolismo, 119
Anaeróbias, bactérias Gram-positivas, não formadoras de esporos, 312-320, 313t-314t
Anaeróbios facultativos, 119
  Enterobacteriaceae como, 253
Anaeróbios, métodos de detecção para, 158t-159t
Anaeróbios obrigatórios, 119
Anaerococcus, 313t
Anafilatoxinas, 48, 77
Análise eletroforética, de DNA, 22
Análise Western blot, 27t, 29, 30f, 397, 398f
Análogo da fosfocolina, 709t-710t
Análogo da ornitina, 709t-710t
Análogos de bases de nucleotídeos, 128
Análogos de nucleosídeos, 401-405, 402f, 403t
Anamorfo, 569
Anaplasma, 338t-341t
  diagnóstico laboratorial de, 345-346
  doença clínica causada por, 345
  epidemiologia de, 344-345
  fisiologia e estrutura de, 344
  métodos de detecção para, 158t-159t
  patogênese e imunidade, 344
  tratamento, prevenção e controle de, 346
Anaplasma phagocytophilum, 143t-148t, 340t-341t, 345
Anaplasmataceae, 344-346
  diagnóstico laboratorial da, 345-346
  doença clínica causada por, 345
  epidemiologia de, 344-345
  fisiologia e estrutura do, 344
  patogênese e imunidade, 344
  tratamento, prevenção e controle, 346
```

```
Anaplasmose granulocítica humana, 343t, 344
Anaplasmose humana, 345, 345q
Ancilostomídeo do Novo Mundo, 750t, 754
Ancilostomídeo do Velho Mundo, 750t, 754
Ancilostomídeos, 687t, 754-756
  Ancylostoma braziliense, 755-756
  Ancylostoma duodenale, 754-755, 754f
  ciclo de vida de, 755f
  Necator americanus, 754-755, 754f
  ovo de, 755f
Ancilóstomo do cão, 750t
Ancilóstomo do gato, 750t
Ancylostoma braziliense, 750t, 755-756
  diagnóstico laboratorial de, 755
  epidemiologia de, 755
  fisiologia e estrutura de, 755
  síndromes clínicas de, 755
  tratamento, prevenção e controle de, 755-756
Ancylostoma duodenale, 690t-691t, 693t, 750t, 754-755, 754f
  diagnóstico laboratorial de, 755
  epidemiologia de, 755
  fisiologia e estrutura de, 754
  mecanismos de aderência de, 693t
  síndromes clínicas de, 755
  tratamento, prevenção e controle de, 755
Anéis anulares, do microscópio de contraste de fase, 17
Anel de Waldeyer, 41f
Anelídeos, de Exophiala spp, 621
Anemia hemolítica, parvovírus e, 455
Anemia hemolítica, parvovírus e, 455
Anergia, na ativação de células T CD4, 66
Anfotericina B, 595, 596t-597t, 599f, 600t, 604t
  para blastomicose, 632-633
  para coccidioidomicose, 635
  para histoplasmose disseminada, 639
  para talaromicose (peniciliose) marneffei, 641
Angiomatose bacilar, 149t-151t, 291, 291f
Angiomatose bacilar, 149t-151t, 291, 291f
Anidulafungina, 596t-597t
Animalia, 687-689
  fisiologia e replicação de, 689-691
Antagonismo, 602
  antifúngicos, 597q
Antagonismo de antibióticos, 163q
Antagonismo dos antifúngicos, 597q
```

```
Antagonistas do ácido fólico, 709t-710t, 710-711
Antibióticos betalactâmicos, 115, 162-165, 163t, 165t, 286
Antibióticos de amplo espectro, 163q, 165, 165t
  para Haemophilus influenzae, 248
  para infecção enterocócica, 200
Antibióticos de espectro estendido, 165, 165t
Antibióticos de espectro expandido, 165, 165t
Antibióticos, Ver também Agentes antibacterianos. Ver também antibióticos e classes específicas
  ativos na parede celular, para enterococos, 200
  diarreia associada aos, Clostridium difficile, 303q, 303t, 304, 304f
  resistência, Pseudomonas aeruginosa, 274-275
Anticódon, 122
Anticorpo heterófilo
  na infecção pelo vírus Epstein-Barr, 437, 437t, 440, 441t
  na mononucleose infecciosa, 439-440, 439f
Anticorpos
  ações antimicrobianas de, 70q
  agentes antivirais e, 403
  detecção de, Ver também Diagnóstico sorológico
    em doenças parasitárias, 704
    em Borrelia, 330-331
    em Campylobacter, 283
    em Chlamydia trachomatis, 353
    em Helicobacter pylori, 286
    em Leptospira, 333
    em Mycoplasma, 336
    em infecção por Streptococcus pyogenes, 192
    em Rickettsiaceae, 344
    em Staphylococcus aureus, 181
    em Treponema pallidum, 325-326, 325t
    no vírus da imunodeficiência humana, 541
    para blastomicose, 632
    para histoplasmose, 639
  em respostas imunes antígeno-específicas, 74-76, 75f
  inativação bacteriana de, 140
  na resposta de imune antiviral, 86
  na resposta imune antibacteriana, 79q, 81-82
  na resposta imune antiparasitária, 89
  reagínicos, 325-326
  vírus e, 378
Anticorpos antiestreptolisina O (ASO), 189
Anticorpos anti-estreptoquinase, 189
Anticorpos maternos, 391
Anticorpos monoclonais, 59, 76, 97
  em diagnóstico sorológico, 26
```

```
Anticorpos policlonais, 75-76
  no diagnóstico sorológico, 26
Anticorpos reagênicos, no diagnóstico da sífilis, 325-326
Antígeno-1 associado à função de leucócitos (LFA-1), 61
Antígeno associado a células, imunoensaios para, 28-29, 28f
Antígeno Austrália, 551
Antígeno capsular K1, 258-259
Antígeno C, de Streptococcus agalactiae, 193
Antígeno comum de enterobactéria, 253
Antígeno da parede celular do grupo D, 185-186
Antígeno de membrana (MA), de Vírus Epstein-Barr, 437, 437t
Antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), 550-551, 550f, 555, 556t, 558
Antígeno do capsídeo viral (VCA), de vírus Epstein-Barr, 437, 437t
Antígeno do grupo A de Lancefield, 186-188
Antígeno do grupo sanguíneo Duffy, 693, 734
Antígeno do core da hepatite B (HBcAg), 550-551, 555, 556t
Antígeno F, em Streptococcus pneumoniae, 196
Antígeno gp43, na patogênese de Paracoccidioides brasiliensis, 579
Antígeno "e" da hepatite B (HBeAg), 550-551
Antígeno O, 115-116, 116f
Antígeno polissacarídeo B, de parede celular grupo-específico, tipo-específico, de Streptococcus agalactiae, 193
Antígeno precoce, do vírus de Epstein-Barr, 437, 437t
Antígeno protetor (PA), de Bacillus anthracis, 203-204
Antígenos, 59-60
  apresentação de, às células T, 63-64, 63q, 64f
    apresentação cruzada de, 65-66, 65f
    endógena versus exógena, 64, 65f
  associados a células, imunoensaios para, 28-29, 28f
  bacterianos, classificação por, 107-109
  muito tardios, 61
  pan-maláricos, 732
  solúveis e anticorpos, imunoensaios para, 29-30
  T-dependentes, 60
  T-independentes, 60
Antígenos K, de Enterobacteriaceae, 254
Antígenos muito tardios, 61
Antígenos nucleares Epstein-Barr (EBNAs), 436-437, 437t
Antígeno solúvel, imunoensaios para, 29-30
Antígenos T-dependentes, 60, 74-75
Antígenos T-independentes, 60, 74-75
Antígeno tuberculina, na hipersensibilidade tipo IV, 92-93, 93f
Antimetabólitos, 163t, 169, 596t-597t
Antimonato de meglumina, 708-710
Antissepsia, 12
  definição de, 12q
```

```
mecanismos de ação de, 12-14
Antitoxina
  botulínica, 310
  diftérica, 217
Antitoxina botulínica, 310
Antitoxina diftérica, 217
Antraz, 204, 204q, 205f
  toxinas, 139t
  vacina para, 99t
Antraz cutâneo, 204, 204q, 205f
Antraz gastrointestinal, 204, 204q
Ânus, entrada de bactérias através do, 135-136
Apicomplexa, 687, 723
Apoindutor, 123
Apophysomyces, 660-661
Apoptose
  na patogênese viral, 377
  na resposta de células T CD8, 69
Aquisição na patogênese viral, 375q, 375f
Ara-A, 433
Arachnida, 689, 791t-792t, 793-799
  ácaros, 796-798, 797q
  aranhas, 793-795
  características biológicas, morfológicas e fisiológicas de, 688t
  carrapatos, 798-799, 798f, 799q
  escorpiões, 795-796, 795f
Aracnidismo
  necrótico, 794
  sistêmico, 793-794
Aracnidismo necrótico, 794
Aracnidismo sistêmico, 793-794
Aranhas, 793-795
  aranha-marrom reclusa, 794-795, 794f
  viúva-negra, 794, 794f
Arbovírus, 381, 389-390, 390t, 512t
  alfavírus e flavivírus, 512-519
Arcanobacterium, 211t-212t
Archae, 106
Areia hidática, 784
Arenavírus, 523t, 527-528
  diagnóstico laboratorial de, 528
  epidemiologia de, 527
  estrutura e replicação de, 527, 527q
  patogênese de, 527
  síndromes clínicas com, 527-528, 527q
```

```
tratamento, prevenção e controle de, 528
  vírions de, 361t
Armadilhas extracelulares dos neutrófilos (NETs), 35-37, 52-54
Arroz, contaminação de, por Bacillus cereus, 207
Artemeter, 711, 774
Artemisininas, 711
Artesunato, 711
Articulação
  coleta e análise de amostras, em infecção fúngica, 587t-588t
  infecção de
    bacteriana, 149t-151t
    fúngicas, 582t-584t
    por Candida, 650t, 651
  protética
    infecção bacteriana em, 149t-151t
    infecção estafilocócica de, 180
    infecção fúngica de, 582t-584t
Articulação protética
  fúngica, 582t-584t
  infecção estafilocócica de, 176q, 180
Artrite
  associada a vírus, 386-387
  bacteriana, 149t-151t
  fúngica, 582t-584t
  gonocócica, 239q
  Haemophilus influenzae, 247
  reativa de Campylobacter, 283
  séptica estafilocócica, 176q, 179-180
Artrite reativa, associada à Campylobacter, 282
Artrite séptica, estafilocócica, 176q, 179-180
Artroconídios, 568, 633-634
  no fio de cabelo, 613-614, 615f
Artrópodes, 688-689, 789-805
  características biológicas, morfológicas e fisiológicas de, 688t
  Chelicerata (Arachnida), 793-799
    ácaros, 796-798, 797q
    aranhas, 793-795
    carrapatos, 798-799, 798f, 799q
    escorpiões, 795-796, 795f
  classes clinicamente importantes de, 791t
  como vetores, 692
  copépodes, 791
  Crustacea, 791-793
  decápodes, 791
  doença associada a, 152t
```

```
doenças associadas a
    Francisella tularensis, 295
    riquétsias, 341
  doenças humanas transmitidas por, 792t
  fisiologia e replicação de, 689-691
  Hexápodes (Insecta), 799-805
    dípteros hematófagos, 799-801
    insetos com ferrão, 805
    moscas do cervo, 801
    moscas dos equinos, 801
    moscas muscoides, 801-802, 801f
    moscas que causam miíase, 802, 802q
    percevejos, 804, 804f
    piolhos sugadores, 802-803, 802f-803f
    pulgas, 803-804, 803f
  Miriápode, 790-791
  Pentastomida, 791-793, 793f
  vírus disseminados por, 389-390, 390t
Ascaríase, 687t
  hepática, 751q
Ascaríase hepática, 751q
Ascaris, 694
Ascaris do cão, 750t
Ascaris do gato, 750t
Ascaris do guaxinim, 750t
Ascaris lumbricoides, 690t-691t, 698, 748t-750t, 749f, 751-752
  ciclo de vida de, 751f
  diagnóstico laboratorial de, 752
  epidemiologia de, 751
  fisiologia e estrutura de, 751
  ovos de, 751
  síndromes clínicas de, 752
  tratamento, prevenção e controle de, 752
Ascaris suum, 751
Ascomycota (ascomicetos), 569-570, 571t
Aspergillus flavus, 657, 680
Aspergillus fumigatus, 657, 658f, 660
  resistência aos antifúngicos de, 604t
Aspergillus, 575t-576t, 590f, 600t, 646q, 657
  aflatoxinas produzidas por, 680
  citrinina produzida por, 681
  diagnóstico laboratorial de, 591t-592t, 594t, 660
  epidemiologia de, 659
  infecção nosocomial por, 649t
  morfologia de, 658, 658f-659f
```

```
ocratoxina produzida por, 682
  patogênese de, 580
  síndromes clínicas com, 658q, 659-660
  taxas de incidência e mortalidade de, 569t
  tratamento e prevenção de, 660
Aspergillus niger, 657, 659f
Aspergillus terreus, 657, 659f, 660
Aspergilomas, 659-660
Aspergilose, 643t-644t, 657-660, 658q
Aspergilose brônquica, 659-660
Aspergilose invasiva, 658q, 660
Aspergilose pulmonar invasiva, 660
Aspirados duodenais, colheita e análise de, 703
Atenuação
  na expressão gênica, 123
  viral, 374
Aterosclerose, Chlamydophila pneumoniae, 349q, 354
Ativador de células B (C3d), na resposta imune antibacteriana, 77
Ativadores
  na resposta de hipersensibilidade, 91-92
  na resposta imune, 34, 36t, 37q
Ativador transcricional, de retrovírus, 533-534
Atividade bactericida, 163q
Atividade bacteriostática, 163q
Atividade fungicida, 597q
Atividade fungistática, 597q
Atividades biológicas, do sistema de complemento, 48
Atopobium, 313t
Atovaquona-proguanil, para doença parasitária, 711
Atovaquona-proguanil, para doença parasitária, 711
ATP sintase, 119-120
Autoclave, 13
Autofluorescência, na microscopia fluorescente, 17
Autoinfecção
  por Strongyloides stercoralis, 756-757
  por vermes, 749
Autolisinas, 115
Avermectinas, 709t-710t, 713
Avidez, de anticorpos, 75-76
Azasordarina, derivados de, 596t-597t, 602
Azidotimidina (AZT), 401, 405
  para vírus da imunodeficiência humana, 541
Azitromicina, 167t, 168, 283-284
  para sífilis, 326
Azóis, como antifúngicos, 597-600, 599f
```

```
resistência a, 604-605
```

```
В
Babesia, espécie, 690t-691t, 728t-730t, 736-737, 736f
  diagnóstico laboratorial de, 700t-701t
  mecanismos de aderência de, 693t
Babesiose, 696t-697t
Babesiose transmitida por transfusão (TTB), 736
Bacillus anthracis, 143t-148t, 202t-203t, 203-206
  diagnóstico laboratorial de, 205-206, 206f
  doenças causadas por, 204-205, 204q
  epidemiologia de, 204
  fisiologia e estrutura de, 203-204, 203f
  métodos de detecção para, 158t-159t
  patogênese e imunidade, 204
  toxina em, 139t
  tratamento, prevenção e controle de, 205-206
  vacinas para, 99t, 206
Bacillus cereus, 143t-148t, 202t-203t, 203f, 206-207
  diagnóstico laboratorial de, 207
  doenças causadas por, 204q, 207
  em doenças transmitidas por alimentos, 151t
  epidemiologia de, 206-207
  métodos de detecção para, 158t-159t
  patogênese de, 206
  tratamento, prevenção e controle de, 207
Bacillus, 202-208, 203f, 203t
  estudo de caso, 207.e1
Bacilo de Koch-Weeks, 247
Bacilos
  álcool-acidorresistentes, métodos de detecção para, 158t-159t
  anaeróbios
    Gram-negativos, 313t, 317-320
    Gram-positivos, 313-317, 313t-314t
  Gram-negativos, 143t-148t, 287-300
    Bartonella, 289-291
    Campylobacter, 281
    Cardiobacterium, 289q, 294-295
    estudo de caso, 300.e1
    Helicobacter, 284
    Legionella, 297
    métodos de detecção para, 158t-159t
    Streptobacillus, 299-300
  Gram-positivos, 143t-148t
```

de ${\it Clostridium perfringens},\,305$

```
métodos de detecção para, 158t-159t
    Mycobacteria, 220-221
Bacilos Gram-negativos não fermentadores, 274t
Bacitracina, 115, 163t, 166
  susceptibilidade a, de Streptococcus pyogenes, 192
Baço, 35, 41q, 42f
  infecção parasitária no, 696t-697t
    ascaríase, 751q
    coleta e análise de amostras de, 703
    diagnóstico laboratorial de, 700t-701t
  macrófagos do, na fagocitose, 54
    na resposta imune antibacteriana, 80
  peliose, 291
Bacteremia, 153, Ver também Sepse, Septicemia
  anaeróbios Gram-negativos, 319
  Campylobacter fetus, 282
  Enterobacteriaceae, 256f
  enterocócica, 187q
  estafilocócica, 176q, 179
  Helicobacter, 284
  Lactobacillus, 316
  Listeria monocytogenes, 213
  Pseudomonas aeruginosa, 275q, 276
  Streptococcus pneumoniae, 187q, 198
  Streptococcus pyogenes, 191
Bacteremia transitória, Lactobacillus, 316
Bactérias, 2-3. Ver também bactérias e doenças específicas
  ações patogênicas de
    destruição tecidual em, 137
    endotoxina e outros componentes da parede celular em, 137-138, 139q, 140f
    exotoxinas em, 137, 138f, 139t
    mecanismos de, 134-142, 135q, 135f
    toxinas em, 137
  adesão de, 136-137, 136t
  antigênicas, 107-109
  biossíntese de, 119-121
  cepa de, 134
  classificação das, 106-109
  colonização de, 136-137
  como procariontes, 106, 107f, 107t
  crescimento de, 124-125, 127f
  detecção e identificação de, 157-161, 158t-159t
  dinâmica populacional, 125, 127f
  distinção genética de, 107-109
  distinção macroscópica e microscópica de, 106-107
```

```
distribuição topográfica de, 7f
  divisão celular em, 116, 117f
  energia para, 119-121, 120f
  entrada no corpo humano de, 135-136, 135t
  esporos de, 116-117, 118f
  estrutura de, 109-113
    citoplasmática, 109
    de micobactérias, 113
    externa, 111-113
    Gram-negativas, 109-111
    Gram-positivas, 109
    parede celular, 109, 110t-111t, 112f
  evasão de, das respostas protetoras, 82
  genes de, 121-125
    controle da expressão de, 122-123, 124f-125f
    engenharia genética de, 132-133, 132f, 132t
    mutações em, 127-128
    recombinação de, 125-133
    reparação de, 128
    replicação do DNA em, 123-124, 127f
    tradução de, 122
    transcrição de, 121-122
    transferência de, 129-131, 130f-131f
    troca de, 128-129, 128f-129f
  imunopatogênese de, 82, 139
  invasão de, 136-137
  metabolismo de, 107-109, 119-121, 120q
  no escape às defesas do hospedeiro, 140-141, 140q, 141f, 141t
  oportunistas, 134
  papel na doença, 143-152
  parede celular de, 2-3, 109, 110t-111t, 112f
    ácido teicóico na, 115, 115f
    inibição antibacteriana da síntese da, 162-166
    lipopolissacarídeo na, 115-116, 116f
    na patogênese bacteriana, 137-138
    peptidoglicano na, 113
  virulentas, 134
  visão geral de patógenos, 143t-148t
Bactérias aeróbias, 119
  Gram-negativas, 143t-148t
  Gram-positivas, 143t-148t
    Listeria e Erysipelothrix, 210
Bactérias álcool-acidorresistentes, 143t-148t
Bactérias anaeróbias, 119
  Gram-negativas, 143t-148t, 317, 318t
```

```
diagnóstico laboratorial de, 319-320, 320f
    doenças clínicas de, 319
    epidemiologia de, 318-319
    fisiologia e estrutura de, 318
    patogênese e imunidade, 318
    tratamento, prevenção e controle de, 320
  Gram-positivas, 143t-148t, 312-313, 313t
Bactérias com forma espiral, métodos de detecção para, 158t-159t
Bactérias corineformes, 215
Bactérias Gram-negativas, 106-107, 108f, Ver também bactérias específicas
  anaeróbias, 317
    diagnóstico laboratorial de, 319-320, 320f
    doenças clínicas causadas por, 319
    epidemiologia de, 318-319
    fisiologia e estrutura de, 318
    patogênese e imunidade, 318
    tratamento, prevenção e controle de, 320
  bacilos, 287-300, 290t
    Bartonella, 289-291, 290q, 290t
    Campylobacter, 281
    Cardiobacterium, 289q, 294-295
    Enterobacteriaceae, 263
    estudo de caso, 300.e1
    Helicobacter, 284
    Legionella, 297
    métodos de detecção para, 158t-159t
    não fermentadores, 274t
    Streptobacillus, 299-300
    Vibrio e Aeromonas, 266-270
  características da membrana de, 111t
  cocos, métodos de detecção para, 158t-159t
  estruturas da membrana de, 110t
  parede celular de, 109-111
  sepse devido a, 138
Bactérias Gram-positivas, 106-107, 108f, Ver também Bactérias Específicas
  anaeróbias, não formadoras de esporos, 312-320, 313t
  bacilos
    de Clostridium perfringens, 305
    Listeria e Erysipelothrix, 210
    métodos de detecção para, 158t-159t
    Mycobacterium, 220-221
  características da membrana de, 111t
  cocos, 170-182
    estreptococos como, 185
    métodos de detecção para, 158t-159t
```

```
cultura, Erysipelothrix rhusiopathiae, 214f
  estruturas da membrana de, 110t
  estudo de caso, 217.e1
  Listeria e, 209-217, 212f
  parede celular de, 109, 112f
  Staphylococcus, 170-182
Bactérias intracelulares, 141q
  crescimento de, 140
  em hemocultura, 154t-155t
  Legionella, 298
Bactérias intracelulares obrigatórias, métodos de detecção para, 158t-159t
Bacteriófagos, 121, 129
Bacteroides fragilis, 143t-148t, 317
  cultura de, 320f
  doenças clínicas causadas por, 319
  epidemiologia de, 318-319
  fisiologia e estrutura de, 318, 318f
  identificação preliminar de, 160t
  infecções com, 312t
  patogênese e imunidade, 318
  toxina de, 318
Bacteroides, 313t, 317
  diagnóstico laboratorial de, 319-320, 320f
  fisiologia e estrutura de, 318
  patogênese e imunidade, 318
Bactoprenol, 113
Bailisascaríase, 753q
Balamuthia, 740
Balantidium coli, 687, 690t-691t, 723, 723f
Barreiras à infecção, 34, 45, 46f
Barreiras naturais, 77
Bartonella bacilliformis, 143t-148t, 289q
Bartonella henselae, 143t-148t, 289q, 291f
Bartonella, 289-291, 290q, 290t
  métodos de detecção para, 158t-159t
Bartonella quintana, 143t-148t, 289q, 290-291
Basidiobolus, 660
Basidiobolus ranarum, 619t, 623, 624f
Basídio, fúngico, 570
Basidiomicetos, 570, 571t
Basófilos, 37-39
  na resposta inata do hospedeiro, 48
Bateria sorológica, 397
Baylisascaris, 752-753
  diagnóstico laboratorial de, 752
```

```
epidemiologia de, 752
  fisiologia e estrutura de, 752-753
  síndromes clínicas de, 752
  tratamento, prevenção e controle de, 752-753
Baylisascaris procyonis, 750t
Bejel, 322-323, 324q
Benzimidazóis, 709t-710t, 712
Beribéri cardíaco, 680t, 683
Berne, 802
Beta-herpesviridae, 426t
betalactâmico/inibidor de betalactamases, para bactérias anaeróbias Gram-negativas, 320
Bexiga
  câncer de, Schistosoma haematobium, 775
  colonização por Candida de, 651
Biblioteca de cDNA, 132-133
Biblioteca genômica, 132-133
Bifidobacterium, 313t-314t, 317
Bifonazol, 596t-597t
Bilharzíase, 772
Biofilme, bacteriano, 110t, 111-112, 136, 140
  de estafilococos, 172
Biotina, 28
Biótipo mitis, 215
Bipolaris, 665, 666f
Blastoconídios, 639-640, 640f
Blastocystis, 719
Blastomicose, 629-633, 630t
  diagnóstico de, 633t
  diagnóstico laboratorial de, 632
  do sistema nervoso central (SNC), 631q
  epidemiologia de, 629-630
  forma cutânea de, 631-632
  pulmonar, 631
  tratamento de, 632-633
Blastomicose sul-americana, 639
Blastomyces dermatitidis, 575t-576t, 627t-628t, 629, 629f, 627.e1
  área de endemicidade de, 630, 631f
  conídios de, 630-631
  diagnóstico laboratorial de, 591t-592t, 594t
  forma de mofo de, 629, 632f
  história natural de, 632f
  morfologia de, 629
  patogênese de, 574-577
    modulação das interações entre as leveduras e o sistema imune do hospedeiro na, 574-576
    resposta imune mediada por células T na, 576-577
```

```
síndromes clínicas de, 630-632
  tratamento de, 600t
Blastoschizomyces capitatus, 656
Bobinas magnéticas, na microscopia eletrônica, 17
Boca
  entrada de bactérias através da, 135-136
  flora da, Candida, 647
  infecção por vírus herpes simples da, 430-431, 431f, 445q
Bocavírus, 453, 456
Bola fúngica, 582t-584t
Bolhas cutâneas, na síndrome da pele escaldada estafilocócica, 175
Bolhas febris, 384, 431
Bombas de efluxo, 597q
Bombas de efluxo do tipo facilitador principal (MDR), 605
Bordetella bronchiseptica, 289q, 291
Bordetella holmesii, 289q, 291
Bordetella, 291-293
  estudo de caso, 300.e1
  toxina em, 139t
Bordetella parapertussis, 143t-148t, 289q, 291
Bordetella pertussis, 143t-148t, 287t-288t, 289q, 291, 292f
  diagnóstico laboratorial de, 292
  métodos de detecção para, 158t-159t
  vacina para, 99t
Bornavírus, 496-502
Borrelia afzelii, 143t-148t
Borrelia burgdorferi, 143t-148t, 323t, 327, 327f, 329
  diagnóstico laboratorial de, 330-331, 331q
  doenças clínicas causadas por, 329-330, 329f
  fisiologia e estrutura de, 327, 327f
  métodos de detecção para, 158t-159t
  patogênese e imunidade, 327-328
Borrelia garinii, 143t-148t
Borrelia hermsii, 323t, 330
Borrelia, 143t-148t, 321-333, 321t-323t
  diagnóstico laboratorial de, 330-331, 331q
  doenças clínicas causadas por, 329-330, 329f
  epidemiologia de, 328-329, 328f
  fisiologia e estrutura de, 327, 327f
  métodos de detecção para, 158t-159t
  patogênese e imunidade, 327-328
  tratamento, prevenção e controle de, 331
Borrelia recurrentis, 143t-148t, 323t, 327-328, 330
Bótria, 782
Botulismo
```

```
ferida, 303q, 309
  infantil, 303q, 309-310, 310q
  transmitido por alimentos, 309, 309q
Botulismo por inalação, 303q, 309
Bouba, 322-323, 324q
Bradizoítos, de Toxoplasma gondii, 737
Bronquiolite, 384, 386t
  vírus parainfluenza e, 482
  vírus sincicial respiratório e, 484-485
Bronquite, bacteriana, 149t-151t
Brotamento, na replicação viral, 371
Brucella abortus, 289q, 293
Brucella canis, 289q, 293
Brucella, 143t-148t, 287t-288t, 289q, 290t, 293-294, 293q
  em doenças transmitidas por alimentos, 151t
  identificação preliminar de, 160t
  métodos de detecção para, 158t-159t
Brucella melitensis, 289q, 293
Brucella suis, 289q, 293
Brucelose, 289q, 293-294, 293q
Brugia malayi, 690t-691t, 750t, 759-760, 760f
  diagnóstico laboratorial de, 759-760
  epidemiologia de, 759
  Fisiologia e estrutura de, 759
  síndromes clínicas de, 759
  tratamento, prevenção e controle de, 760
Bunyaviridae, 358, 523t, 524-527
  características únicas de, 525q
  diagnóstico laboratorial de, 526
  epidemiologia de, 525-526, 525q, 526f
  estrutura de, 524, 525f, 525t
  géneros importantes de, 524t
  patogênese de, 524-525, 525q
  replicação de, 524
  síndromes clínicas com, 526, 526q
  tratamento, prevenção e controle de, 527
  vírions do, 361t
Burkholderia cepacia, complexo, 143t-148t, 274t, 275q, 277
Burkholderia gladioli, 277
Burkholderia, 274t, 277-278, 277q
  métodos de detecção para, 158t-159t
Burkholderia mallei, 274t
Burkholderia pseudomallei, 143t-148t, 274t, 277
Burkitt, linfoma de, Africano, 436, 440
Burst size, em vírus, 364
```

Butenafina HC, <u>596t-597t</u>